

Câmpus
Anápolis de Ciências
Exatas e Tecnológicas
Henrique Santillo



Universidade Estadual de Goiás
Unidade Universitária de Ciências Exatas e Tecnológicas Henrique Santillo
Programa de Pós-Graduação *Stricto Sensu* em Ciências Aplicadas a Produtos
para Saúde

PATRÍCIA JOSÉ MARQUES TANNÚS

**FILMES POLIMÉRICOS DESINTEGRÁVEIS A PARTIR DE BLENDA DE
GELATINA - QUITOSANA**

DISSERTAÇÃO DE MESTRADO

ANÁPOLIS – GO

2017

PATRÍCIA JOSÉ MARQUES TANNÚS

FILMES POLIMÉRICOS DESINTEGRÁVEIS A
PARTIR DE BLENDS DE GELATINA -
QUITOSANA

Dissertação de mestrado apresentada ao Programa de
Pós-Graduação *Stricto sensu* em
Ciências Aplicadas a Produtos para a Saúde
como requisito para obtenção do título de mestre

Área de concentração: Desenvolvimento de produtos farmacêuticos

Orientador: Prof^a Dra. Luciana Rebelo Guilherme

ANÁPOLIS – GO
2017

Tannús, Patrícia José Marques

Filmes poliméricos desintegráveis a partir de blendas de gelatina-quitosana.

68 p.

Orientador(a): Luciana Rebelo Guilherme.


Dissertação (Mestrado), Universidade Estadual de Goiás, Campus Anápolis, 2017.

1. Quitosana. 2. Gelatina. 3. Blendas poliméricas. 4. Filmes poliméricos

Patrícia José Marques Tannús

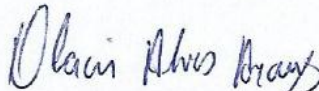
**“Filmes poliméricos desintegráveis a partir de blendas de gelatina-
quitosana”**

Dissertação defendida no Programa de Pós-Graduação *Stricto Sensu* em Ciências Aplicadas a Produtos para Saúde da Universidade Estadual de Goiás, para a obtenção do título de Mestre, aprovada em 23 de fevereiro de 2017, pela Banca Examinadora constituída pelos seguintes professores:



Prof. Dra. Luciana Rebelo Guilherme

Presidente da Banca

UEG/CCET


Prof. Dr. Olacir Alves Araújo

UEG/CCET


Prof. Dra. Renata Danielle Adati

Membro Externo

UTFPR

Dedico este trabalho a Deus por simplesmente ser Deus
e Senhor das nossas vidas. Ao meu esposo Danilo que com
seu amor incondicional demonstrou que desistir não era opção.
Ao meu filho Daniel pela paciência e apoio.
À minha mãe pelas orações.
À Adriana por cuidar de nós e
ao Marvin pela alegria.

AGRADECIMENTOS

A Deus por ser maravilhoso e estar conosco sempre. A Ele toda honra e toda glória.

Ao meu esposo Danilo Tannús pelo apoio, confiança e estímulo e por me mostrar que desistir nunca seria uma opção. Ao meu filho Daniel Tannús pela paciência e entendimento das circunstâncias em tão tenra idade. Ao Marvin pelas incontáveis horas de sono embaixo da mesa aos meus pés e por sua alegria constante. À Adriana Santos que assumiu as funções e cuidou tão bem de tudo.

À minha mãe Gilda Marques em especial por sempre acreditar e orar por mim. À minha Família, porto seguro onde encontro segurança e motivação para prosseguir, agradeço pela compreensão e créditos irrestritos.

À querida orientadora, mestra e amiga, Prof^a Dra. Luciana Rebelo Guilherme, que acreditou primeiro e me deu a chance de mostrar meu trabalho quando todos não acreditavam. Ao Murillo Fernandes, colega e amigo incansável nas horas de laboratório e de pesquisas e meu hacker particular.

Ao querido Prof. Dr. Alisson Martini, pelo incentivo e apoio ao meu ingresso neste programa de pós graduação.

Ao Eduardo Lopes pelos trabalhos e parcerias em salas de aula.

Aos amigos Marissa Paiva e James Teixeira pelo apoio e ajuda.

Ao Sr. Ivan Teixeira, Berlando Silva, Claudinê Moura e Andreia Moreira pelos conhecimentos adquiridos e ajuda prestados a este trabalho.

À Genix pelo apoio e disponibilidade e financiamento.

À UEG pela oportunidade.

À FAPEG pelo apoio financeiro.

A todas as pessoas que se alegram comigo por esta vitória.

“O temor ao Senhor é o princípio da sabedoria.
E o conhecimento do santo é o entendimento”.

Pv 9,10.

SUMÁRIO

Lista de abreviaturas.....	vi
Lista de tabelas e gráficos.....	vii
Lista de figuras.....	viii
Resumo.....	10
Abstract.....	11
1. Introdução	12
2. Revisão bibliográfica.....	14
2.1. Gelatina.....	14
2.2. Sistemas de liberação controlada.....	17
2.3. Quitosana.....	19
2.4. Blendas de gelatina-quitosana.....	23
2.5. Proposta do estudo.....	25
3. Objetivos.....	26
3.1. Objetivo geral.....	26
3.2. Objetivos específicos.....	26
4. Metodologia.....	27
4.1. Materiais e métodos.....	27
4.2. Formação das blendas e filmes.....	28
4.2.1. Codificação dos géis e filmes formados.....	28
4.2.2. Formação das blendas e filmes.....	28
4.3. Caracterizações químicas e físicas das amostras para determinar os aspectos químicos.....	31
4.4. Testes de desintegração dos filmes formados	32
5. Resultados e discussões.....	33
5.1. Espectroscopia vibracional de absorção na região do infravermelho..	33
5.2. Análise termogravimétrica (TGA).....	38
5.3. Ensaio de calorimetria exploratória diferencial (DSC).....	40
5.4. Microscopia eletrônica de varredura (MEV).....	45
5.5. Análise de pH.....	48
5.6. Desintegração dos filmes.....	49
6. Conclusão.....	53
7. Referências.....	55
8. Anexos.....	59

LISTA DE ABREVIATURAS

GD.....	Grau de Desacetilação
IV.....	Infravermelho
DSC.....	Calorimetria exploratória diferencial
MEV.....	Microscopia Eletrônica de Varredura
FTIR.....	Fourier Transform Infrared Spectroscopy
UR.....	Umidade Relativa
UV.....	Ultra Violeta
Tg.....	Temperatura de transição vítrea
TGA.....	Análise termogravimétrica
Tm.....	Temperatura melting (temperatura de fusão cristalina)
VIS.....	Visível

LISTA DE TABELAS

Tabela 1:	Codificação dos géis e filmes formados.....	28
Tabela 2:	Medidas de espessura dos filmes formados.....	31
Tabela 3:	Principais bandas observadas no espectro de FTIR para blenda gelatinas + quitosana.....	37
Tabela 4:	Valores de pH obtidos para blendas quitosana-gelatina.....	48
Tabela 5:	Tempos de desintegração (em segundos) dos filmes poliméricos.....	50

LISTA DE FIGURAS

Figura 1:	Representação da estrutura molecular do colágeno.....	14
Figura 2:	Representação da unidade de repetição da gelatina.....	15
Figura 3:	Representação da estrutura química da quitina.....	20
Figura 4:	Representação da estrutura molecular da quitosana.....	20
Figura 5:	Representação de alguns derivados de quitosana.....	22
Figura 6:	Fotografia dos géis de quitosana e gelatina.....	27
Figura 7:	Fotografia do dispositivo para formação dos filmes.....	29
Figura 8:	Fotografia das etapas de formação dos filmes.....	30
Figura 9:	Representação dos pontos de medição de espessura dos filmes.....	30
Figura 10:	Espectro de absorção do IV para blendas formadas por gelatina 260 + quitosana na região de 4000 a 400cm ⁻¹	33
Figura 11:	Espectro de absorção do IV para blendas formadas por gelatina 270 + quitosana na região de 4000 a 400cm ⁻¹	33
Figura 12:	Espectro de absorção do IV para blendas formadas por gelatina 260 + quitosana na região de 2000 a 600cm ⁻¹	34
Figura 13:	Espectro de absorção do IV para blendas formadas por gelatina 270 + quitosana na região de 2000 a 600cm ⁻¹	35
Figura 14:	Representação da estrutura química da quitosana com destaque para os grupos funcionais.....	36
Figura 15:	Representação da estrutura química da gelatina com destaque para os grupos funcionais.....	36
Figura 16:	Curvas de TGA das blendas de gelatina 260 + quitosana.....	38
Figura 17:	Curvas de TGA das blendas de gelatina 270 + quitosana.....	39
Figura 18:	Curvas das derivadas dos termogramas das blendas, gelatinas puras e quitosana pura.....	40
Figura 19:	DSC dos filmes formados pelas blendas de gelatina 260 + quitosana.....	41
Figura 20:	DSC dos filmes formados pelas blendas de gelatina 270 + quitosana.....	41
Figura 21:	Curvas de DSC da quitosana e filmes de gelatinas puras.....	42
Figura 22:	Curvas de DSC para amostras comerciais de quitosana.....	43
Figura 23:	Curvas de DSC dos filmes obtidos a partir das blendas de gelatina 260, 270 e quitosana.....	44

Figura 24:	Microscopia eletrônica de varredura da superfície dos filmes de gelatina pura.....	45
Figura 25:	Microscopia eletrônica de varredura da superfície dos filmes obtidos das blendas 260.....	46
Figura 26:	Microscopia eletrônica de varredura da superfície dos filmes obtidos das blendas 270.....	47
Figura 27:	Gráfico de pH X concentração de quitosana nas amostras.....	48
Figura 28:	Tempo de desintegração X concentração de quitosana nas amostras.....	51
Figura 29:	Fotografia do filme após cerca de 15 minutos de desintegração em tampão fosfato pH 6,8.....	52

RESUMO

A gelatina animal é uma proteína natural desnaturada obtida através da hidrólise do colágeno, uma proteína fibrosa presente em peles e ossos de animais bovinos e suínos. Principal componente na fabricação de cápsulas gelatinosas duras e moles com aplicações diversas em outras áreas como indústria de alimentos e até fotografia. Devido às suas características de não toxicidade e por ser compatível com o organismo corporal humano é muito usada como biomaterial. A quitosana é um biopolímero natural obtido pela desacetilação da quitina, um polissacarídeo natural, não tóxico e biodegradável obtido do exoesqueleto de alguns crustáceos, sendo considerado o segundo mais abundante da natureza. Esse composto vem sendo largamente estudado como biomaterial de potencial aplicação nas áreas médicas e farmacêuticas, em razão de sua natureza catiônica e solubilidade em meio ácido. As blendas poliméricas são misturas de ao menos dois polímeros combinados entre si. São de grande importância na área de biomateriais uma vez que seu uso vem sendo empregado para melhorar a relação custo-desempenho em produtos comerciais. Este trabalho teve por objetivo o desenvolvimento de novas formulações de filmes poliméricos desintegráveis a partir de blendas de gelatina-quitosana. Estes filmes poderão ser usados em sistemas de liberação controlada de fármacos ou em cápsulas resistentes ao suco gástrico. Para isso foram feitos testes de desintegração nos filmes para verificar o tempo necessário para que ocorresse a ruptura ou abertura do filme, necessários para liberação do fármaco no meio. Os resultados obtidos demonstraram que a quitosana presente nas amostras aumenta o tempo necessário para desintegração do material. Nos filmes obtidos a partir das composições de blendas quitosana-gelatina, também foram feitos testes de medição do pH e caracterizações como calorimetria exploratória diferencial (DSC), análise termogravimétrica (TGA), espectroscopia vibracional de absorção na região do infravermelho (IV) e microscopia eletrônica de varredura (MEV). Estas análises serviram para caracterizar as blendas formadas e estudar suas propriedades. Os resultados obtidos demonstraram que houve compatibilidade entre a gelatina e quitosana na formação das blendas.

Palavras-chave: quitosana, gelatina, blendas poliméricas, filmes poliméricos.

ABSTRACT

The animal gelatine is a natural protein denatured obtained by hydrolysis of collagen, a fibrous protein found in skin and bones of bovine and porcine animals. Main component in the manufacture of hard and soft gelatin capsules with various applications in other areas such as the food industry and even photography. Due to its characteristics of no toxicity and is compatible with the human organism, is widely used as a biomaterial. Chitosan is a natural biopolymer obtained by deacetylation of chitin, a natural polysaccharide, non-toxic and biodegradable obtained from the exoskeleton of some crustaceans, is considered the second most abundant of nature. This compound has been widely studied as a potential biomaterial application in the medical and pharmaceutical areas. The polymer blends are mixtures of at least two polymers combined. It is great importance in the biomaterials area since its use has been employed to improve the cost-performance ratio in commercial products. This work aimed at the development of new formulations of polymeric films disintegrable from gelatin-chitosan blends. These films may be used in controlled drug delivery systems or in enteric capsules. For this purpose, disintegration tests were performed on the films to verify the time required for the rupture or opening of the film, necessary for the release of the drug in the medium. The results obtained showed that the chitosan present in the samples increases the time required for disintegration of the material. In the films obtained from the compositions of chitosan-gelatin blends, pH measurement tests and characterization analyzes were also performed, such as differential scanning calorimetry (DSC), thermogravimetric analysis (TGA), spectroscopy in the region of infrared (IR), and scanning electron microscopy (SEM). These analyzes were used to characterize the formed blends and to study their properties. The results showed that there was compatibility between gelatine and chitosan in the formation of blends.

Keywords: chitosan, gelatin, polymer blends, polymers films.

1. INTRODUÇÃO

A gelatina animal é o componente principal de uma cápsula, um invólucro usado para carrear substâncias (medicamentos, alimentos funcionais, etc) para uso terapêutico diverso. É uma proteína desnaturada obtida através da hidrólise do colágeno, uma proteína fibrosa presente em peles e ossos de animais bovinos e suínos (PODZECK, FRIDUM; JONES, 2004). Possui um custo relativamente baixo, com excelente capacidade de formação de películas e é produzida em todo o mundo (DHANDAYUTHAPANI; KRISHNAN; SETHURAMAN, 2010). Possui outras aplicações técnicas diversas como nas indústrias de alimentos e de fotografias (BIGI; PANZAVOLTA; RUBINI, 2004). Devido às suas características de não toxicidade e ser compatível com o organismo corporal humano é muito usada como biomaterial.

A quitina é um polissacarídeo natural, não tóxico e biodegradável obtido do exoesqueleto de alguns crustáceos, sendo considerado o segundo mais abundante da natureza. A quitosana é um biopolímero natural obtido pela desacetilação da quitina, através de um tratamento térmico alcalino (KITTUR et al., 2002). Vem sendo largamente estudada como biomaterial de potencial aplicação nas áreas médicas e farmacêuticas, sendo observadas aplicações em produtos para regeneração de nervos, adsorventes, recuperação ou purificação de produtos de alto valor agregado como proteínas e na liberação controlada de fármacos (TORRES et al., 2005). Também é muito usada em tratamentos de obesidade por ser rico em fibras e na indústria alimentícia. Outras aplicações descritas para quitina, quitosana e derivados são: agentes antimicrobianos, formação de membranas para osmose reversa, tratamento de efluentes e aditivo no processo de clarificação de bebidas (FAI; MONTENEGRO STAMFORD; MONTENEGRO STAMFORD, 2008).

Polímeros são compostos naturais ou sintéticos constituídos de macromoléculas com massa molar de 10^4 a 10^6 formado por unidades iguais (monômeros) que se repetem ao longo da cadeia (AKCELRUD, 2007). Blendas poliméricas são misturas de ao menos dois polímeros e tem grande importância na área de biomateriais disponíveis para aplicações diversas tais como hidrogéis e filmes desintegráveis (TONHI; PLEPIS, 2002). O uso de materiais em blendas vem

sendo empregado para melhorar a relação custo-desempenho em produtos comerciais (CHEN et al., 2008). O uso de blendas em filmes poliméricos produzidos a partir de polissacarídeos apresenta excelente barreira ao oxigênio, devido ao empacotamento das moléculas e às ligações de hidrogênio que formam uma rede estruturada. Contudo, possuem fatores limitantes como a solubilidade em água, devido a sua alta hidrofiliabilidade (ROTTA; BARRETO; MINATTI, 2009)..

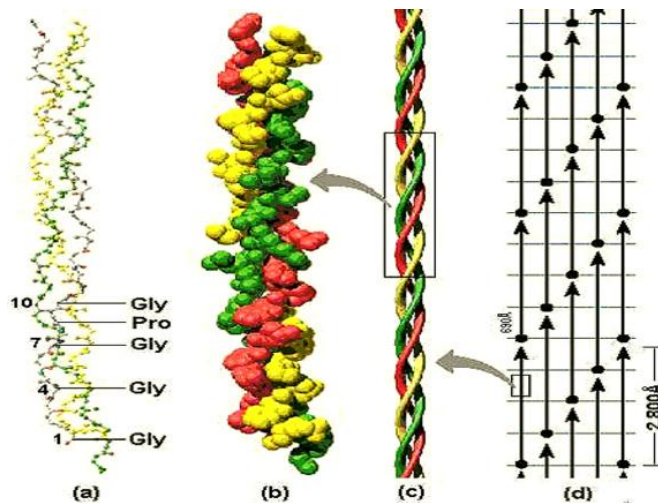
Este trabalho teve por objetivo o desenvolvimento de novas formulações de filmes poliméricos desintegráveis a partir de blendas de gelatina-quitosana. Estes filmes poderão ser usados em sistemas de liberação controlada de fármacos ou na formação de cápsulas entéricas. Para verificar essa aplicação, foram efetuados testes de desintegração dos filmes, conforme métodos descritos na Farmacopéia Brasileira, para avaliar o tempo decorrido para que houvesse a ruptura ou abertura do material, necessário para liberação de um fármaco no meio. Também foram efetuadas medição do pH nas blendas e análises de caracterizações nos filmes obtidos a partir das composições de blendas quitosana-gelatina, para caracterizar o material e estudar suas propriedades.

2. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

2.1. Gelatina

A gelatina é o componente principal de cápsulas e de muitos materiais usados na alimentação e filmes fotográficos. É uma proteína desnaturada que forma géis estáveis abaixo de 40°C e é obtida pela hidrólise do colágeno, uma glicoproteína fibrosa encontrada em todo o reino animal, e que apresenta cadeias de aminoácidos organizadas em forma paralela a um eixo formando as fibras que proporcionam resistência e elasticidade à estrutura presente (Figura 1) (DA SILVA; PENNA, 2012).

Figura 1: Representação da estrutura molecular do colágeno



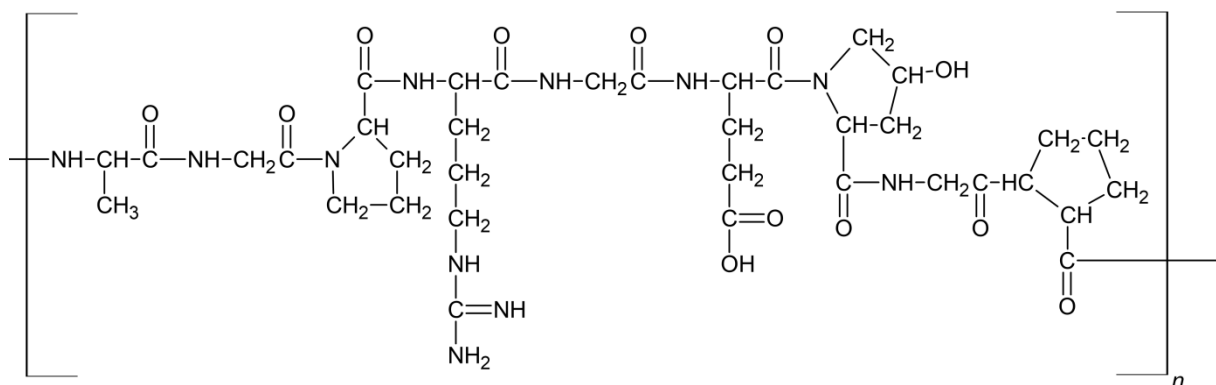
Fonte: DUARTE, 2011. (a) forma de triplete presente nas matrizes colagênicas; (b) tropocolágeno; (c) tripla hélice; (d) modelo do quarto alternado pentafibrilar

Estas cadeias de aminoácidos apresentam uma seqüência estrutural básica com grandes quantidades de glicina, prolina, lisina e outros dois aminoácidos: a hidroxiprolina e hidroxilisina. A estrutura é composta por tres cadeias polipeptídicas helicoidais (Figura 1a) que se enovelam formando uma tripla hélice estável e de tamanho variado (Figura 1c). As moléculas de tripla hélice secretadas pela célula apresentam estruturas globulares terminais denominados procolágenos que, quando clivadas dão origem a uma estrutura polimerizada denominada tropocolágeno

(Figura 1b). Esta clivagem é realizada por proteínas que garantem a agregação espontânea das moléculas de tropocolágeno, que se agrupam em polímeros dando origem às fibrilas que se associam em feixes maiores formando então as fibras de colágeno (LEHNINGER; NELSON; COX, 2002). As moléculas de tropocolágeno possuem uma disposição ordenada na formação das microfibrilas, onde a quinta molécula coincide com a primeira, contribuindo para que as fibras colágenas apresentem um padrão estriado (Figura 1d) (DUARTE, 2011).

A molécula de gelatina apresenta uma combinação de aminoácidos de glicina, prolina e hidroxiprolina, dispostas em sequências repetidas em cadeias do polímero (BUREY et al., 2008). A estrutura molecular da unidade de repetição (monômero - n) do polímero de gelatina está demonstrada na Figura 2.

Figura 2: Representação da unidade de repetição da gelatina



Fonte: (LI et al., 2014) Figura adaptada pelo autor.

A razão pela qual a gelatina é o material mais usado é que a mesma possui cinco propriedades básicas (AULTON, 2005).

- É uma substância atóxica, o que faz com que seja amplamente usada na indústria cosmética e alimentícia;
- É facilmente solúvel nos fluidos biológicos à temperatura ambiente;
- Forma filmes bons e resistentes;
- Mesmo em concentrações elevadas (acima de 50% m/v) a massa é fluída. Outros materiais gelificantes não o são (agar por exemplo);

- Devido à sua característica de apresentar-se em forma de gel à temperaturas pouco maiores que a ambiente, ela contrasta com filmes usados em revestimentos que necessitam de solventes voláteis para formar a massa líquida (como os filmes de revestimento de comprimidos).

A comercialização da gelatina é feita em acordo com sua habilidade em formar gel, sendo graduadas em termos de força de gelificação ou “bloom”. Quanto maior o bloom, menor a viscosidade e menor a concentração de gelatina. Contudo é possível produzir géis com firmezas variadas a partir de diversos tipos de bloom (PODZECK, FRIDUM; JONES, 2004).

Além destas características, a gelatina também é facilmente solúvel em água e soluções ácidas (pH 1,0 a 2,5), motivo pelo qual é material de escolha na formação de cápsulas para uso de carreamento de medicamentos ou alimentos funcionais para o organismo. Sua desintegração ocorre no suco gástrico (pH ácido) a 36°C com posterior absorção dos materiais carreados nesta parte do organismo.

Algumas substâncias, entretanto, requerem a absorção no intestino. Para que isto ocorra, as cápsulas devem ser protegidas vazias ou com material envasado para que possam liberar o material somente no suco intestinal (pH em torno de 6,8) (BRASIL, 2011).

A Farmacopéia Americana institui que, para uma forma farmacêutica ser chamada de gastrorresistente, no ensaio de dissolução o fármaco não pode ser liberado em meio ácido durante um período de duas horas, e, não menos que 75% do fármaco pode ser liberado após 30min em meio básico (USP, 2014).

Algumas técnicas no mercado, principalmente na área magistral, são aplicadas às cápsulas para favorecer a liberação entérica. Estas técnicas utilizam soluções de formaldeído associado a outros componentes (como álcool de cereais) onde as cápsulas são banhadas após o envase do princípio ativo. Os resultados dos testes indicaram que esta metodologia de revestimento é eficaz em relação à gastroresistência (CREMINÁCIO et al., 2008).

Como exemplo, há ainda outros dois métodos de revestimentos gastrorresistentes em cápsulas no setor magistral: revestimento pH dependente

quando a cápsula recebe um banho em spray de uma solução contendo polímeros insolúveis em meio ácido (eudragit, acetolftalato de celulose, goma, laca, etc.) e o uso de revestimento usando um excipiente que retarde a liberação do princípio ativo misturado à substância ativa envasada dentro da cápsula. Geralmente são usados polímeros com alto poder hidrofílico (PEZZINI; SILVA; FERRAZ, 2007).

Em todos os casos de formação de cápsulas gastroresistentes há inconvenientes dos métodos seja pela toxicidade, seja pelo alto valor agregado que as farmácias de manipulação não podem e não conseguem assumir o custo sem repassar os mesmos para o paciente, inviabilizando o custo do medicamento (PEZZINI; SILVA; FERRAZ, 2007).

Outro inconveniente relatado é o que se relaciona ao invólucro em si. A cápsula de gelatina se exposta em condições aceleradas, tais como 40°C e 75% de Umidade Relativa (UR), pode apresentar reticulação (*crosslinking*) que caracteriza-se pela formação de uma película entre o material envasado e a camada externa da gelatina. Este processo é facilitado pela exposição a temperaturas altas (em torno dos 40 °C), alta umidade (em torno de 70% de UR), exposição de radiações Ultravioleta (UV) e visível (VIS), uso de corantes e aldeídos na formulação. O maior impacto da formação de reticulação nas cápsulas é o tempo de desintegração prolongado e uma subsequente desaceleração da taxa de dissolução do medicamento. Alguns estudos relataram o uso de enzimas no composto envasado para diminuir ou eliminar a formação do reticulado (CUI; XIE; SONG, 2011).

Uma alternativa recorrente é o uso da gelatina em combinações de compostos formando blendas para otimização das características de filmes de liberação prolongada resistentes ao suco gástrico: blendas de alginato-gelatina (DONG; WANG; DU, 2006), blendas de gelatina e polivinil álcool (PAWDE; KALIM DESHMUCH, 2008) e blendas de quitosana-gelatina (DHANDAYUTHAPANI; KRISHNAN; SETHURAMAN, 2010).

2.2. Sistemas de liberação controlada

Além da reticulação, o fato de que muitas substâncias não suportam o processo de compressão, ou necessitam de absorção a nível intestinal, ou precisam

de um sistema específico de liberação, levantou-se a necessidade de desenvolver alguns sistemas de liberação controlada os quais estão sendo utilizados em diferentes áreas devido à sua intensa aplicação. Estes sistemas de liberação são descritos como uma tecnologia de viabilidade econômica e funcional, já que permitem a utilização de substâncias ativas em quantidades precisas, nos locais específicos (PEZZINI; SILVA; FERRAZ, 2007).

As formas farmacêuticas de liberação prolongada ou controlada são desenvolvidas para liberar o fármaco de forma modulada, retardando ou prolongando sua dissolução em contrapartida às formas convencionais, nas quais a liberação do fármaco é feita rapidamente após a administração. Além dos comprimidos e cápsulas com revestimentos entéricos, existem outras variedades de sistemas objetivando condicionar a velocidade e o local de liberação dos fármacos: lipossomas, bombas osmóticas, sistemas transdérmicos, pró-fármacos e sistemas matriciais poliméricos (PEZZINI; SILVA; FERRAZ, 2007).

Lipossomas são estruturas vesiculares microscópicas formadas por bicamadas concêntricas de fosfolípidos em redor de um compartimento aquoso, que pode incorporar tanto substâncias hidrofílicas como lipofílicas. De acordo com requisitos farmacêuticos e farmacológicos, permitem alterações físicas e químicas levando ao direcionamento específico e a liberação progressiva e controlada do fármaco encapsulado. Muito usado em tratamentos de leishmaniose, esquistossomoses, doença de Chagas e câncer (MACHADO; GNOATTO; KLUPPEL, 2007).

Bombas osmóticas são sistemas de pressão osmótica que utilizam a pressão osmótica para liberar o fármaco. Possui um núcleo revestido de uma membrana semipermeável contendo um agente osmótico que pode ser o fármaco ativo ou outro material. Na injeção da bomba, o solvente penetra no núcleo e o fármaco é liberado através de um orifício feito a laser na membrana da bomba (PEZZINI; SILVA; FERRAZ, 2007).

Os sistemas transdérmicos são aqueles que, quando aplicados sobre a pele, liberam o fármaco que atravessa as várias camadas da pele e alcançam a corrente sanguínea numa velocidade constante durante um tempo determinado e prolongado (LUCINDA; EVANGELISTA, 1999). Já os pró-fármacos são fármacos ativos

transformados, quimicamente, em um derivado inativo que após um ataque químico ou enzimático, ou ambos, ativa-o novamente antes ou após alcançar seu local de ação desejado (CHUNG et al., 2005).

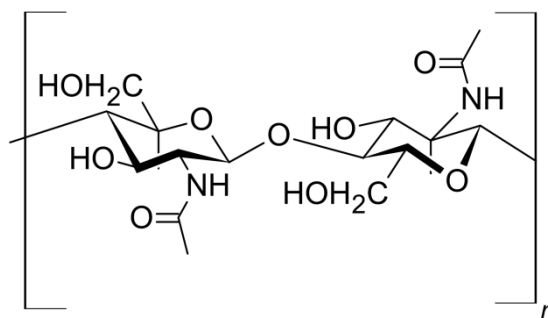
As matrizes são soluções ou dispersões de um fármaco em uma ou mais substâncias que modulam a sua liberação. São constituídas geralmente de polímeros hidrofílicos ou inertes e podem ser elaborados em forma de comprimidos, cápsulas, grânulos ou pellets. A liberação ocorre por intumescimento do polímero, com erosão da matriz e difusão do fármaco. Em alguns casos o fármaco pode estar ligado ao polímero e ser liberado pela ação de enzimas ou pela quebra hidrolítica das ligações (PEZZINI; SILVA; FERRAZ, 2007).

O uso de sistemas matriciais constituídos de polímeros é uma das estratégias mais empregadas no desenvolvimento de formulações de liberação modificada devido a vantagens como versatilidade, eficácia, baixo custo de produção com técnicas convencionais. Também permite a incorporação de quantidades elevadas de fármacos. O desenvolvimento de sistemas de liberação modificada depende da seleção de um agente apropriado capaz de controlar a liberação do fármaco, sustentar a ação terapêutica ao longo do tempo e/ou de liberar o fármaco em alvos específicos como tecido ou órgão alvo. Os polímeros e biopolímeros, tais como a gelatina e quitosana, têm sido opções de escolha neste processo (LOPES; LOBO; COSTA, 2005).

2.3. Quitosana

Quitosana é um biopolímero derivado da quitina, componente estrutural de carapaças de crustáceos. A quitina (Figura 3) é o segundo polissacarídeo mais abundante na natureza depois da celulose. A quitosana pode ser obtida pela desacetilação da quitina por álcalis e também pode ser encontrada em alguns fungos como aqueles pertencentes à família *Mucor* e *Zygomycetes*. Ambas são copolímeros constituídos por unidades N-acetil-D-glicosamina e D-glicosamina (SILVA; KÁTIA; FERREIRA, 2006).

Figura 3: Representação das estrutura química da quitina

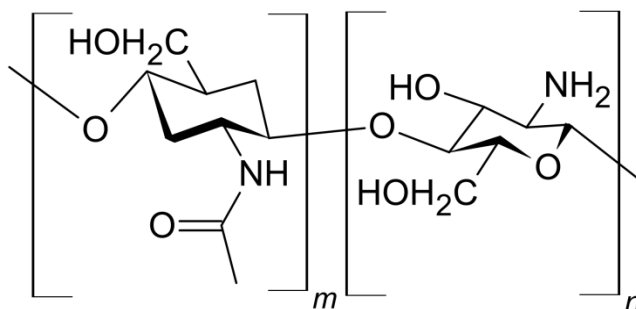


Fonte: (FILHO; SIGNINI; CARDOSO, 2007). Figura adaptada pela autora.

A estrutura primária da quitosana (Figura 4) é idêntica a da quitina excetuando que na quitosana predominam as unidades 2-amino-2-desoxi-D-glicopirranose. Contudo as unidades 2-acetamido-2-desoxi-D-glicopirranose, remanescentes da quitina, que determinam o grau médio de desacetilação do polímero. O grau de desacetilação (GD) é uma propriedade química muito importante da quitosana, sendo definido em termos de porcentagem de grupos aminos primários na estrutura principal do polímero e a média do peso molecular.

A forma comercial típica da quitosana encontrada no mercado são copolímeros com grau de desacetilação entre 70% a 95% devido ao fato de que a completa desacetilação da quitina (100%), resulta em um elevado consumo de reagentes e água além de favorecer a despolimerização (FILHO; SIGNINI; CARDOSO, 2007). Este grau de desacetilação (GD) é importante quimicamente, pois é capaz de influenciar as características químicas, físicas e biológicas do biopolímero, tais como hidrofobia, capacidade de reticulação, solubilidade e viscosidade de suas soluções (GEORGE; ABRAHAM, 2006).

Figura 4: Representação da estrutura molecular da quitosana



Fonte:(RINAUDO, 2006)(FILHO; SIGNINI; CARDOSO, 2007). Figura adaptada pela autora, Legenda: (m) unidades 2-acetamido-2-desoxi-D-glicopirranose; (n) unidades 2-amino-2-desoxi-D-glicopirranose.

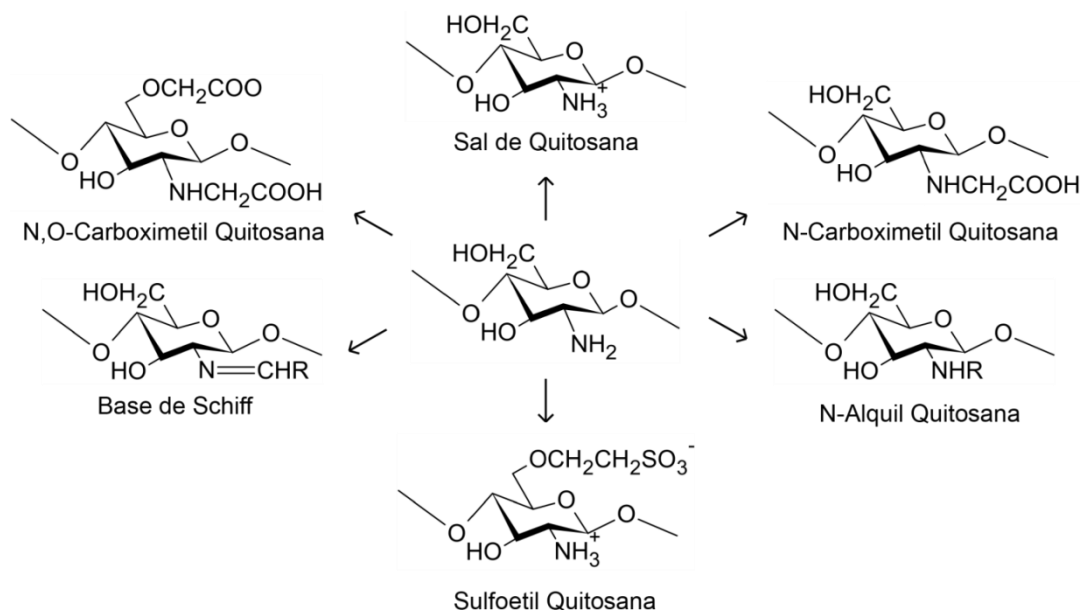
Dentre todos os biopolímeros naturais, a quitosana apresenta o maior caráter catiônico uma vez que a maioria apresenta caráter neutro tais como celulose, dextrana e amido, ou aniônico como alginato, carragenina e xantana. Somado a isso, algumas funções bem particulares da quitosana estão diretamente relacionadas a seu caráter eletrolítico, inclusive certos procedimentos de reticulação de suas cadeias (SANTOS et al., 2003).

A quitosana é insolúvel em água, solventes orgânicos e bases, e apresenta solubilidade em soluções ligeiramente ácidas devido à protonação dos grupos amino de suas unidades glicosamina. Esta solubilidade está relacionada a ocorrência de cargas positivas devido a presença de grupos aminos protonados ($-\text{NH}_3^+$) na cadeia polimérica (FILHO; SIGNINI; CARDOSO, 2007) (SANTOS et al., 2003).

A baixa solubilidade da quitosana pode ser devido aos grupos aminos serem ácidos fracos (pK_a 6,5 ~ 7,0), ao tipo de processo aplicado para obtenção do polímero que gera produtos não-uniformes e à sua natureza associativa. Como é obtida por modificações químicas em laboratório que visam introduzir grupos carregados, a aplicação depende das características estruturais e comportamento físico-químico. Os agentes modificadores dissolvidos no meio reacional não têm plena acessibilidade aos sítios reativos da cadeia polimérica, que permanecem insolúveis durante as reações por se associarem fortemente através de ligações de hidrogênio. A propriedade de solubilidade da quitosana depende do grau médio de carga dos polímeros e sua distribuição ao longo da cadeia (SIGNINI; FILHO, 2001).

Para solubilização do biopolímero, os ácidos acético e fórmico são os mais usados e dispersões de quitosana também podem ser preparadas por dissolução em ácidos inorgânicos diluídos, tais como, nítrico, clorídrico, perclórico e fosfórico. Para facilitar sua solvatação em água, após a dissolução em meio ácido, os grupos amino livres da quitosana tornam-se protonados ($-\text{NH}_3^+$), proporcionando versatilidade química à substância e oferecendo possibilidades de modificações, tais como, sais de quitosana, *N*-alquilação, *N*-carboxilação, *N*-sulfonação e formação de bases de *Schiff* com aldeídos e cetonas (Figura 5).

Figura 5: Representação de alguns derivados de quitosana



Fonte: (FILHO; SIGNINI; CARDOSO, 2007) Figura adaptada pela autora.

Mesmo a maioria das modificações químicas da quitosana ocorrendo em seus grupos amino, as hidroxilas das unidades estruturais do biopolímero também são susceptíveis a reações e as modificações químicas (GONSALVES; ARAÚJO, 2011).

A quitosana é muito usada nas indústrias alimentícias e como produtos suplementares como aglutinante de gorduras, redutor de colesterol e fórmulas de emagrecimento. Sua natureza catiônica proporciona o aprisionamento de lipídeos no intestino delgado. Possui biodegradabilidade devido a enzimas lisozimas produzidas em humanos que a degradam e mucoadesividade a paredes de mucosas intestinais, motivo pelo qual é bastante considerada no estudo de liberação de drogas em sítios de ação específicos (GEORGE; ABRAHAM, 2006).

Como apresenta solubilidade em meios ácidos, esta propriedade faz com que a quitosana seja usada na entrega de drogas químicas para o estômago. Mas para a entrega de fármacos para o intestino, por serem insolúveis em meios neutros ou básicos, a quitosana apresenta limitações aos seu uso principalmente em aplicações na área farmacêutica (FILHO; SIGNINI; CARDOSO, 2007). Para superar isso, muitas modificações podem ser feitas para melhorar a estabilidade da quitosana no estômago e a liberação controlada de fármacos subsequente no intestino, como o uso em blendas formando novos materiais (GEORGE; ABRAHAM, 2006).

2.4. Blendas de gelatina-quitosana

Blendas são misturas de dois ou mais polímeros sem que ocorra ligações químicas entre eles. Uma vantagem desse processo é a obtenção de novo material polimérico sem realização de síntese de novo polímero, reduzindo os longos períodos de pesquisa e o alto custo das sínteses químicas no desenvolvimento de outros materiais. Assim torna-se vantajoso trabalhar com blendas uma vez que é possível combinar uma série de polímeros em várias proporções e obter materiais com vantagens variantes de acordo com as características físicas e químicas de cada polímero na mistura (TONHI; PLEPIS, 2002).

A miscibilidade de blendas é possível de ser avaliada mediante o critério de análise de temperatura de transição vítrea (T_g). Baseado neste critério uma blenda pode ser considerada miscível quando a T_g está situada em uma faixa de temperatura intermediária às temperaturas de transições vítreas dos componentes puros. Ao menos uma diferença de 20°C entre as temperaturas deve ser constatada. Blendas parcialmente miscíveis apresentam duas ou mais transições vítreas correspondentes a cada fase, com deslocamento em relação aos componentes puros. As imiscíveis apresentam transições vítreas semelhantes aos componentes puros (CASSU; FELISBERTI, 2005). Dentre as técnicas mais empregadas para determinar esta temperatura está a calorimetria exploratória diferencial (DSC), um método versátil e rápido.

Geralmente uma blenda miscível apresenta uma única fase constituindo uma mistura homogênea. Porém poucas blendas poliméricas são miscíveis e a maioria forma misturas heterogêneas. No entanto, neste caso, dependendo da extensão da mistura, algumas propriedades dos componentes podem ser camufladas por um ou mais componentes. Já as imiscíveis apresentam morfologia complexa e é comum empregar técnicas de microscopia eletrônica de varredura (MEV) para confirmação da compatibilidade entre os componentes da blenda (QUENTAL et al., 2010).

A habilidade da gelatina em formar géis termorreversíveis à temperatura corporal contribui para o aumento do uso deste composto em blendas para fins diversos (ARVANITTOYANNIS; NAKAYAMA; AIBA, 1998). Contudo, como descrito por CARVALHO et al (2009) em associação com polímeros sintéticos (como

polivinilalcool), a gelatina reduz consideravelmente a suscetibilidade à umidade relativa do meio aumentando as características de plasticidade do composto. Já a quitosana apresenta-se biocompatível e biodegradável, no entanto, apresenta baixa resistência mecânica e baixa flexibilidade.

Com base nestas características vários estudos envolvendo blendas de gelatina associadas a quitosana, tem sido relatados com o intuito de melhorar ambos os compostos e formar novos biomateriais para aplicações diversas (PEPINO; PLEPIS; MARTINS, 2014).

Os estudos reológicos de géis de quitosana-gelatina descritos por PEPINO, PLEPIS e MARTINS (2014) demonstraram que o uso da gelatina em blendas com quitosana levou a um enovelamento ou aumento das interações das cadeias do gel com características de sólido em todo intervalo de tempo estudado, contribuindo para a comprovação do potencial uso destes compostos em aplicações de biomateriais a partir dos géis formados.

Hidrogéis em forma de blendas oferecem uma excelente variedade de aplicações médicas como substitutos de peles, matrizes e adesivos corporais para carreamento de drogas e suportes em engenharia de tecidos e fluidos corporais, sendo que alguns estudos relatam o uso de blendas gelatina-quitosana como hidrogéis biopoliméricos (CHEN et al., 2003).

Um outro sistema que utiliza blendas poliméricas em sua composição é o filme para dissolução oral, um novo sistema de entrega de drogas que se dissolve rapidamente sobre a parte superior da língua ou na cavidade bucal como um todo. Filmes são estruturas estendidas bidimensionais finas ou espessas. Para dissolução oral, geralmente são usados polímeros solúveis em água e que se desintegram rapidamente, sendo a gelatina um exemplo de polímero amplamente usado nestas composições (PATIL; SHRIVASTAVA, 2014). A combinação entre polímeros leva a otimização das propriedades físicas desses filmes, podendo levar, por exemplo, a diminuição ou aumento do tempo de desintegração (DIXIT; PUTHLI, 2009).

A diferença entre os vários tipos de filmes poliméricos existentes pode ser caracterizada pelo tempo de desintegração dos mesmos e seus locais de aplicação. Podem ser encontrados filmes mucoadesivos, de desintegração oral e de liberação

retardada de drogas. Dependendo da terapia medicamentosa as vias de administração oral ou sublingual, filmes mucoadesivos, que são colocados sobre as faces, mas também podem ser aplicados sobre o palato. E tem também os filmes de aplicação vaginal ou retal. Alguns polímeros podem ser empregados na mistura para modular esta propriedade de desintegração quando são necessários que os filmes permaneçam aderidos ao sítio de aplicação por um período prolongado de tempo. Neste aspecto o conhecimento das propriedades de solubilidade de cada componente da mistura deve ser levado em conta para obtenção dos efeitos desejados (HOFFMANN; BREITENBACH; BREITKREUTZ, 2011).

2.5. Proposta do estudo

Atualmente tem-se falado muito em sistemas de liberação prolongada de fármacos ativos e em formas de proteção para carreamento destes fármacos até seu local de ação. O sistema de encapsulamento oriundo do século XIX, as cápsulas, usa prioritariamente a gelatina animal (bovina ou suína) como matéria-prima, apesar de vários outros componentes que também foram desenvolvidos ao longo do tempo. Conforme a Farmacopéia Brasileira 5ª ed. (BRASIL, 2010), a desintegração das cápsulas ocorre normalmente no estômago, em pH ácido, para liberação do fármaco neste sítio de absorção. Proteínas e fármacos destinados ao sistema intestinal necessitam de proteção adequada para atingir estes sítios antes de sua liberação.

Os filmes orais são outra opção para o carreamento de drogas e outras aplicações, Esta forma tem como característica básica o tempo de desintegração para liberação das drogas em seu sítio de ação. Este trabalho objetivou testar a formação de filmes poliméricos desintegráveis a partir de blendas de quitosana e gelatina bovina.

Os estudos de caracterização, medição de pH e os testes de desintegração dos filmes em meios aquoso, ácido e básico, conforme métodos descritos na Farmacopeia Brasileira, foram efetuados para caracterizar e estudar as propriedades do material. E também servirão como base para determinação das utilizações e aplicações diversas desses filmes.

3. OBJETIVOS

3.1. Objetivo geral

O objetivo deste trabalho foi desenvolver e moldar novas formulações de filmes poliméricos desintegráveis a partir de blendas de gelatina-quitosana. E efetuar os testes de pH, caracterizações e desintegração nos mesmos para estudar suas propriedades e verificar o tempo decorrido para ruptura ou abertura do material nos meios específicos.

3.2. Objetivos específicos

- Desenvolver filmes poliméricos a partir das blendas de gelatina e quitosana.
- Efetuar teste de pH nos géis formados antes da formação dos filmes.
- Efetuar as caracterizações químicas e físicas dos filmes (blendas) formados: análises de calorimetria exploratória diferencial (DSC), espectroscopia na região de absorção do infravermelho (IV), análise termogravimétrica (TGA) e microscopia eletrônica de varredura (MEV).
- Avaliar o tempo necessário para a desintegração dos filmes (blendas) em meios de desintegração normal (água quente) e desintegração entérica (Solução de HCl 0,1 Mol L⁻¹ e Tampão fosfato pH 6,8).

4. /METODOLOGIA

4.1. Materiais e Métodos

A quitosana utilizada foi adquirida da SIGMA-ALDRICH®, grau de desacetilação (GD) de 84,1% e viscosidade de 525 cPS. Para a obtenção dos géis, inicialmente preparou-se uma solução 4% (m/v) de quitosana. Pesou-se 4g do pó em béquer de 100mL e misturou-se com 100mL de solução de ácido acético marca ULTRAQUÍMICA 99,8% a 5% (m/v) sob agitação manual até dissolução. O béquer foi tampado e deixou-se em banho-maria a 50°C inicialmente por 24h. Não tendo sido formado o gel como desejado, deixou-se por mais 24h. Estabeleceu-se o tempo de 48h para repouso em banho-maria a 50°C (Figura 4).

Para preparação do gel de gelatina pesou-se 33g de gelatina (bloom 260 ou 270) e diluiu-se com 100mL de água destilada aquecida a 65°C. Foi acrescentado 0,2mL de ácido acético glacial ULTRAQUÍMICA 99,8% (2000ppm), usado como conservante no gel. Isto foi necessário devido ao fato de que algumas amostras apresentaram fungos, visto que a gelatina é um excelente meio de cultura. As gelatinas usadas foram da ROUSSELOT® (270) e da GELITA® (260). Sob aquecimento (50°C) e agitação, o gel foi mantido por 15 min até dissolução completa da gelatina.

Manteve-se a solução gelatinosa em forma de gel sob aquecimento em banho-maria a 65°C por cerca de 17h ± 3h (Figura 6).

Figura 6: Fotografia dos géis de quitosana e gelatina



Fonte: Foto tirada pela Autora. (A) Gel de Quitosana; (B) Gel de Gelatina (C) Comparação entre os géis

4.2. Formação das blendas e filmes

4.2.1. Codificação dos géis e filmes formados

As blendas formadas pela combinação de gel de gelatina e gel de quitosana receberam as codificações conforme descrito na Tabela 1, codificação dos materiais. As soluções de gelatina pura (260 ou 270) foram denominadas de Gel 260.1 e Gel 270.1. O gel de quitosana a 4% de Gel 8 (100% de quitosana na amostra).

Os filmes formados a partir dos géis receberam a codificação de Filme 260 ou Filme 270 seguido do número da amostra correspondente à proporção de gelatina e quitosana misturada nas blendas, conforme Tabela 1.

O gel de quitosana 4% puro (Gel 8) não formou filme.

Tabela 1: Codificação dos géis e filmes formados

Concentração	Gelatina 260	Gelatina 270	Filme 260	Filme 270
Solução de Gelatina (100%)	Gel 260.1	Gel 270.1	Filme 260.1	Filme 270.1
Gelatina + Quitosana (99/1%)	Gel 260.2	Gel 270.2	Filme 260.2	Filme 270.2
Gelatina + Quitosana (95/5%)	Gel 260.3	Gel 270.3	Filme 260.3	Filme 270.3
Gelatina + Quitosana (90/10%)	Gel 260.4	Gel 270.4	Filme 260.4	Filme 270.4
Gelatina + Quitosana (80/20%)	Gel 260.5	Gel 270.5	Filme 260.5	Filme 270.5
Gelatina + Quitosana (70/30%)	Gel 260.6	Gel 270.6	Filme 260.6	Filme 260.6
Gelatina + Quitosana (60/40%)	Gel 260.7	Gel 270.7	Filme 260.7	Filme 270.7
Solução de Quitosana (100%)	Gel 8	Gel 8	-	-

4.2.2 Formação das blendas e filmes

Para formação das blendas, foram misturadas porções de solução de gelatina 33% e gel de quitosana 4% nas proporções de 99%/1% (m/m), 95%/5% (m/m),

90%/10% (m/m), 80%/20% (m/m), 70%/30% (m/m) e 60%/40% (m/m) (ver Tabela 1 – Codificação dos materiais). Após a mistura das proporções citadas, os géis foram mantidos em banho-maria a 50°C para medição do pH.

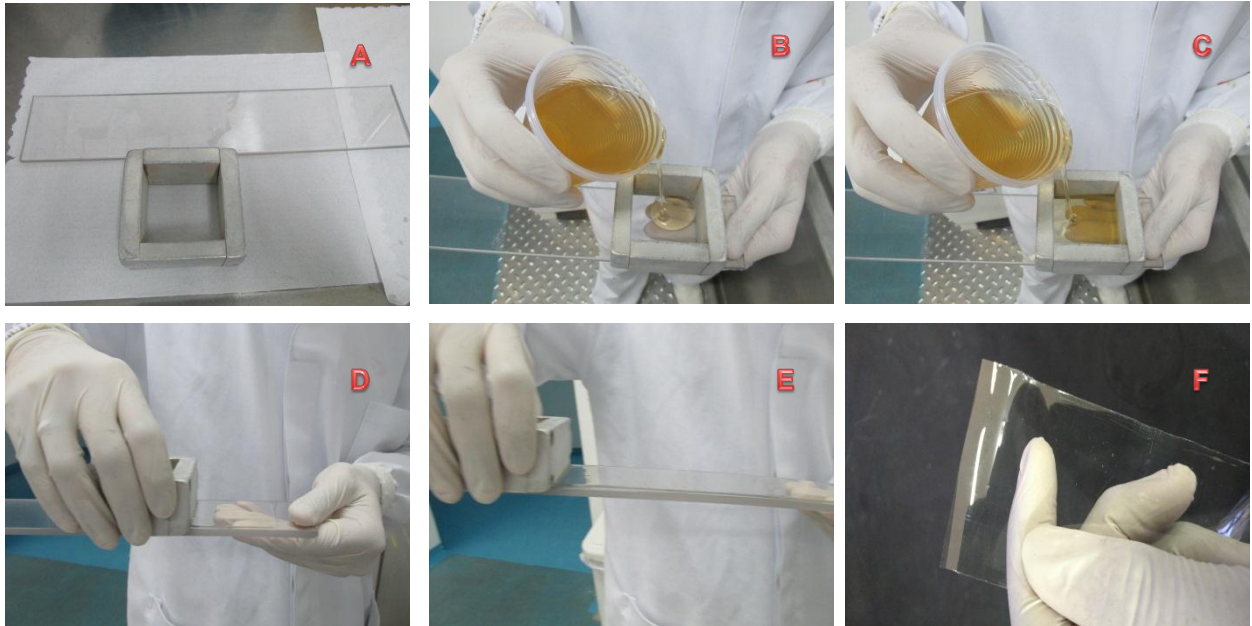
Na formação dos filmes a partir das blendas descritas anteriormente foi usado um dispositivo próprio (Figura 7) formado por uma placa de acrílico de 20cm X 7cm e um quadrado de metal de aço inoxidável de 7cm X 7cm. Colocou-se uma pequena porção da blenda em gel, o suficiente para preencher o espaço interno do quadrado na superfície da placa de acrílico. O quadrado foi mantido em uma ponta da placa e depois correu-se o mesmo sobre placa de modo que o gel foi espalhado formando uma película fina. A placa foi colocada sobre uma superfície horizontal plana e deixou-se secar a temperatura ambiente até que o filme pudesse ser retirado da placa (Figura 8).

Figura 7: Fotografia do dispositivo para formação dos filmes



Fonte: Foto tirada pela Autora.

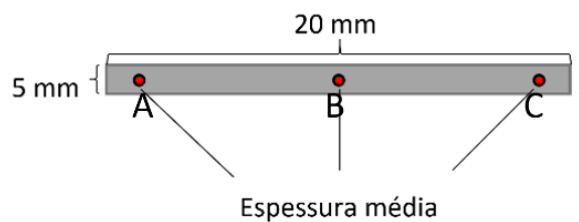
Figura 8: Fotografia das etapas de formação dos filmes



Fonte: Foto tirada pela Autora. (A) Dispositivo para formar filmes; (B) e (C) Disposição do gel; (D) e (E) Corrida para formação do filme e (F) filme formado.

Para a espessura média dos filmes formados, escolheu-se os filmes formados por gelatina pura (260.1 e 270.1) e os filmes das blendas contendo 90% de gelatina e 10% de quitosana (260.4 e 270.4). Optou-se por este filme por ser o de proporção mediana ao estudo. Foi efetuada a medida em micrômetro marca Tesa modelo ISOMASTER®, capacidade de 0-25mm ($\pm 0,1\text{mm}$). Para cada filme cortou-se uma tira de 20mm de comprimento por 5mm de largura e mediu-se em três pontos distintos: extremidade direita, extremidade esquerda e centro do filme (Figura 9), sendo o valor encontrado de cerca de 0,08mm em média.

Figura 9: Representação dos pontos de medição da espessura dos filmes



Fonte: desenho feito pela autora

Tabela 2: Medidas de espessuras dos filmes formados

Filme	Amostra	Medidas (em mm)			Média	Desvio padrão
		Medida 1	Medida 2	Medida 3		
Filme 260.1	1	0,07	0,09	0,07	0,07	±0,01
	2	0,07	0,07	0,07		
	3	0,07	0,07	0,09		
Filme 270.1	1	0,11	0,11	0,10	0,11	±0,01
	2	0,12	0,12	0,10		
	3	0,10	0,10	0,10		
Filme 260.4	1	0,09	0,09	0,09	0,09	±0,01
	2	0,09	0,08	0,11		
	3	0,08	0,11	0,09		
Filme 270.4	1	0,08	0,08	0,07	0,08	±0,01
	2	0,07	0,09	0,09		
	3	0,07	0,08	0,07		

Os filmes foram mantidos em frascos fechados até a realização dos testes.

4.3. Caracterizações químicas e físicas das amostras para determinar os aspectos químicos

Para caracterizar e estudar as propriedades das blendas formadas foram efetuadas as seguintes análises nos géis e filmes:

- **pH:** determinar a acidez ou basicidade do gel formado;
- **Espectroscopia vibracional de absorção na região do infravermelho (IV):** determinar quais os grupos funcionais presentes no produto;
- **Calorimetria diferencial exploratória (DSC):** determinar a temperatura de transição vítrea das blendas e componentes;
- **Análise termogravimétrica (TGA):** determinar a temperatura de decomposição térmica das blendas e componentes;
- **Microscopia eletrônica de varredura (MEV):** análise das superfícies dos filmes;
- **Desintegração:** tempo médio de desintegração dos filmes formados.

Os testes de pH e desintegração, foram realizados nas instalações da Genix Ind. Farmac. Ltda e os testes de MEV, IV, DSC e TGA foram realizados na Universidade Estadual de Goiás (UEG).

Nos géis formados, o teste de pH foi feito usando o aparelho QUÍMIS Q-400m2, 10V, série nº 168, a temperatura ambiente (~25°C).

As análises de caracterizações por espectroscopia vibracional de absorção na região do infravermelho (IV) foram efetuadas com transformada de Fourier, utilizando pastilhas de KBr na região de 4000 a 400cm⁻¹. Usou-se o equipamento Frontier FTIR Perkin Elmer® nº de série 93788.

Os ensaios de calorimetria exploratória diferencial (DSC) dos filmes obtidos foram feitos no equipamento DSC da PerkinElmer, modelo 6000, nas seguintes condições de análises: cadinho de alumínio, nitrogênio líquido para resfriamento, vazão de gás inerte (N₂) = 20,0 mL/min e taxa de aquecimento = 10°C/min. Foi efetuada uma corrida de aquecimento com amostras de aproximadamente 5,5 mg. O resfriamento foi realizado até a temperatura de -30°C.

As análises termogravimétricas (TGA) foram feitas no equipamento TGA da Perkin Elmer, modelo P1TGA, série nº 537L08091284, atmosfera inerte de nitrogênio (N₂), no intervalo de temperatura de 25°C a 1000°C e taxa de aquecimento de 10°C/ minuto.

As análises de microscopia eletrônica de varredura (MEV) foram efetuadas no equipamento modelo TM 3030Plus HITACHI-HIGH TECHNOLOGIES, série nº 156053-02, aceleração de 5kV, magnificação de 80, 200 e 6000.

4.4. Testes de desintegração dos filmes formados

Os testes de desintegração foram feitos com o objetivo de verificar se os filmes obtidos apresentavam características de desintegração em meio aquoso, ácido ou básico e se, conforme disposto na Farmacopéia Brasileira 5ª edição, apresentavam comportamento de desintegração entérica (a nível intestinal) ou desintegração prolongada em meio ácido (maior tempo em comparação às cápsulas de gelatina usuais). Após a formação do filme e estando ele seco, pequenas porções de 1cm² foram submetidas ao teste de desintegração segundo a técnica descrita na Farmacopéia Brasileira 5ª ed. para desintegração entérica e desintegração simples e conforme metodologia fornecida pela Genix Ind. Farmac. Ltda, MGE-0021 Rev.01.

Para simular a desintegração entérica foi usada a solução de HCl 0,1Mol L⁻¹ para o **teste 1** e a solução tampão pH 6,8 para o **teste 2**. Para a desintegração simples foi usada água destilada a 37°C.

Os equipamentos usados foram os da marca NOVA ÉTICA, modelo 301-AC-3, série nº 07031/05 e 19304/09.

5. RESULTADOS E DISCUSSÃO

5.1. Espectroscopia vibracional de absorção na região do infravermelho

Os espectros de absorção foram realizados nas blendas (géis) formadas com concentrações de 10 a 40% de quitosana, gel de quitosana puro e gel de gelatina puro (sem quitosana na amostra), na região de 4000 a 400 cm^{-1} , conforme Figuras 10 e 11.

Figura 10: Espectro de absorção do IV para blendas formadas por gelatina 260 + quitosana na região de 4000 a 400 cm^{-1}

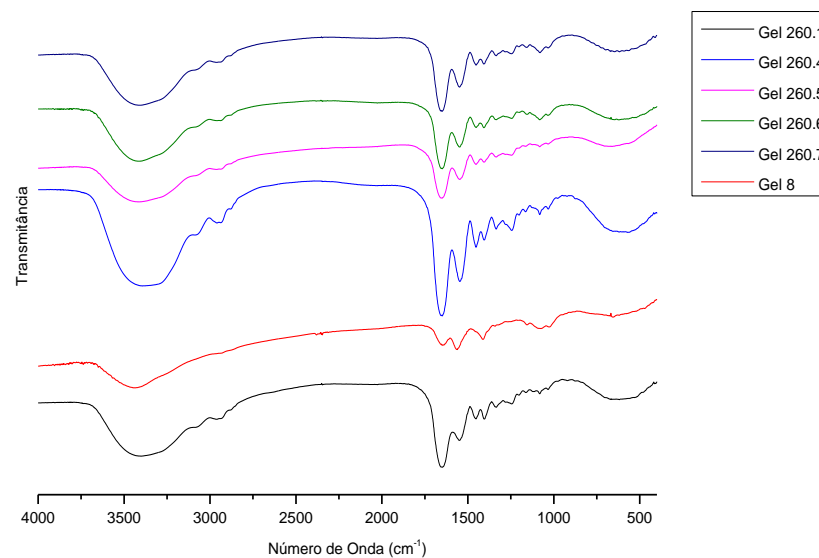
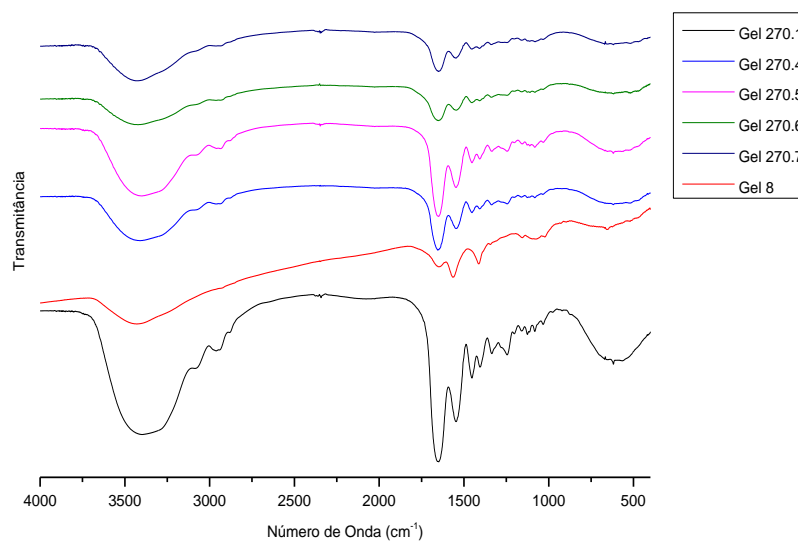


Figura 11: Espectro de absorção do IV para blendas formadas por gelatina 270 + quitosana na região de 4000 a 400 cm^{-1}



Para melhor compreensão das bandas encontradas relacionadas aos componentes das blendas, os gráficos foram ampliados à região de 2000 a 600 cm^{-1} como demonstrado nas Figuras 12 e 13.

Figura 12: Espectro de absorção do IV para blendas formadas por gelatina 260 + quitosana na região de 2000 a 600 cm^{-1}

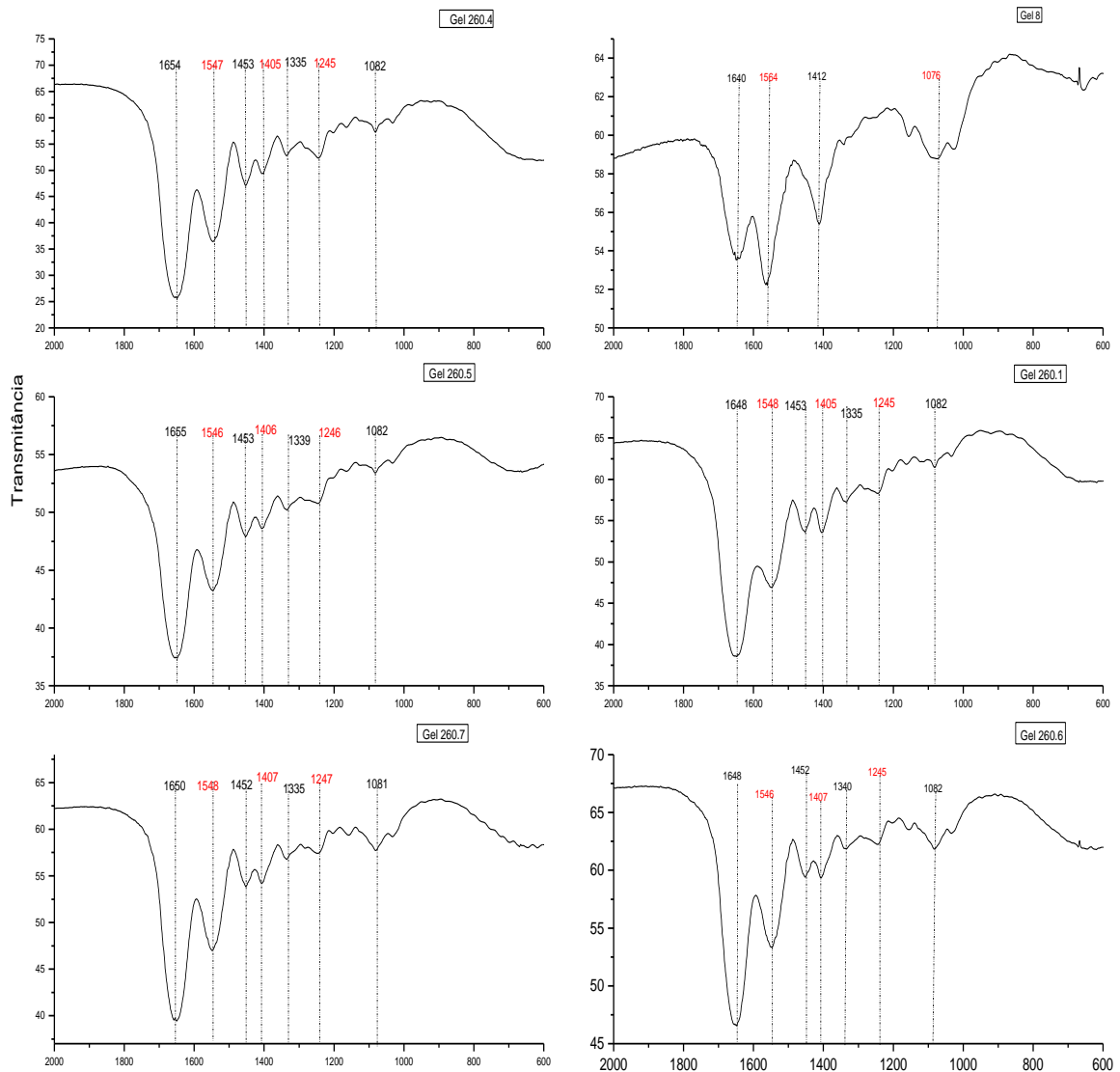
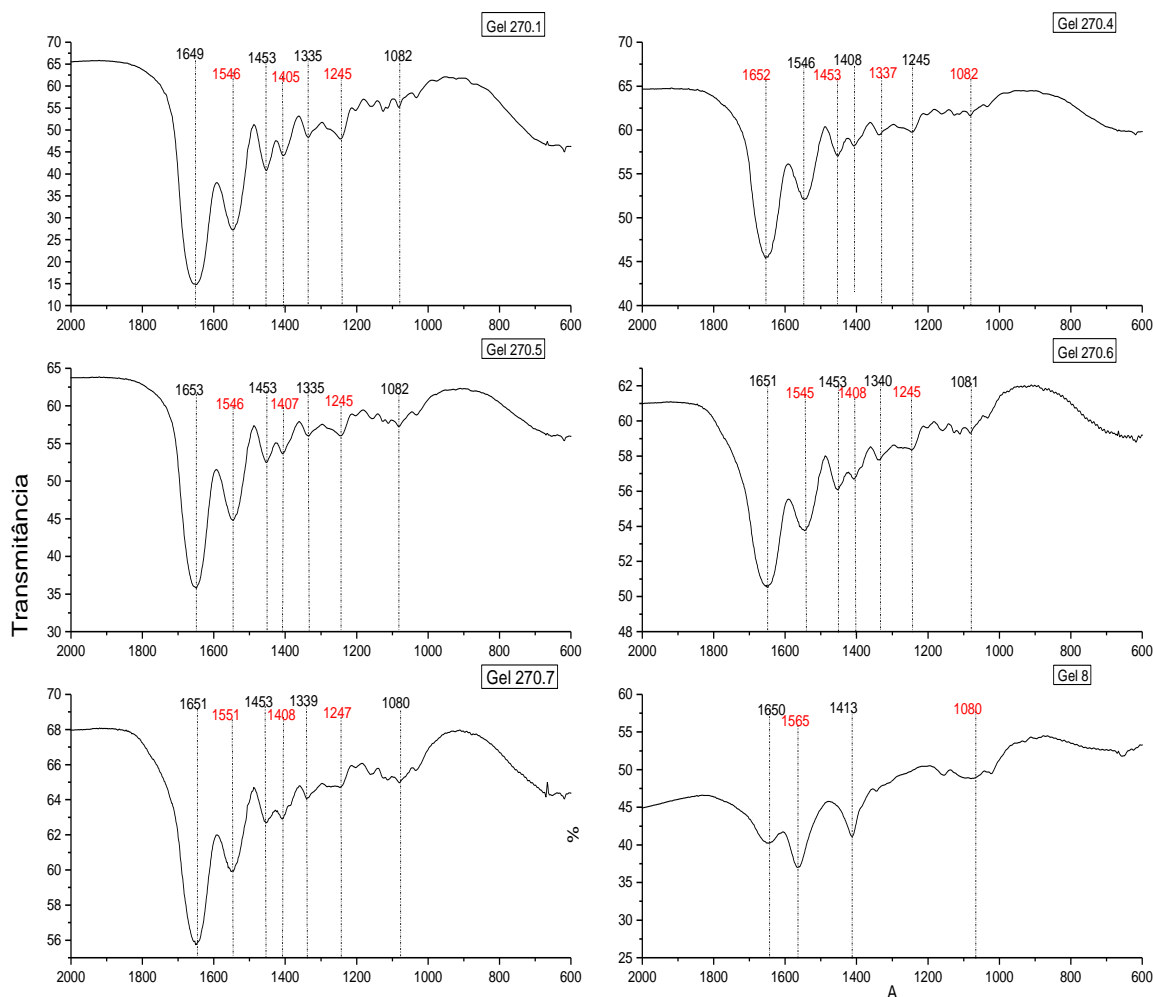


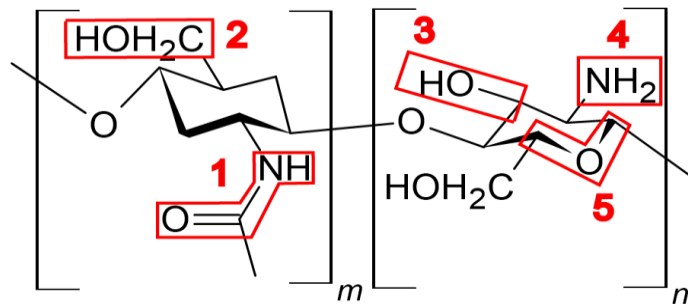
Figura 13: Espectro de absorção do IV para blendas formadas por gelatina 270 + quitosana na região de 2000 a 600 cm^{-1}



O espectro da quitosana apresenta as seguintes bandas principais: 1650cm^{-1} devido ao estiramento de C=O de amida secundária; 1565cm^{-1} relacionada à deformação angular de N-H de amina primária; 1412cm^{-1} ao estiramento de -C-N de amida e 1080 cm^{-1} devido ao estiramento C-O-C da estrutura piranosídica (éter), e estiramento de C-O de álcool primário (BELLAMY, 1975) (TONHI; PLEPIS, 2002) (SALAZAR; MARTINS; PLEPIS, 2014) (BARROS et al., 2006) (GARCIA et al., 2008).

Para o grupamento funcional álcool secundário presente na estrutura química do polímero quitosana (Figura 14), não foram identificadas bandas características.

Figura 14: Representação da estrutura química da quitosana com destaque para os grupamentos funcionais

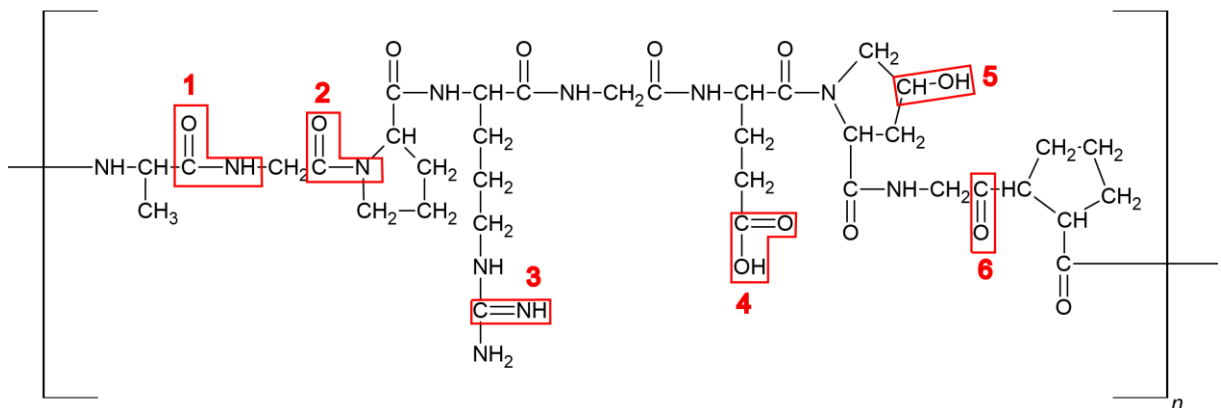


Fonte: (RINAUDO, 2006). Figura adaptada pela autora. Legenda: (1) Amida II; (2) Álcool I; (3) Álcool II; (4) Amina I e (5) Éter.

As bandas principais para o espectro da gelatina foram 1650 cm^{-1} devido ao estiramento C=O da amida secundária; 1545 cm^{-1} devido a banda de estiramento de N-H acoplado ao grupo C-N de amida secundária; 1452 cm^{-1} devido ao estiramento de C=O de ácido carboxílico; 1405 cm^{-1} relacionada a deformação angular simétrica de OH e estiramento de C-O; 1335 cm^{-1} correspondente ao estiramento C-O de álcool secundário; 1245 cm^{-1} relacionada a um sinal característico de amida terciária e 1082 cm^{-1} ao estiramento de C-N (BELLAMY, 1975) (SALAZAR; MARTINS; PLEPIS, 2014) (TONHI; PLEPIS, 2002) (PRESTES et al., 2013) (MORAES et al., 2008).

Para os os grupos funcionais Imina e cetona, presentes na estrutura química da gelatina (Figura 15) , não foram identificadas bandas características.

Figura 15: Representação da estrutura química da gelatina com destaque para os grupamentos funcionais



Fonte: (RINAUDO, 2006). Figura adaptada pela autora. Legenda: (1) Amida II; (2) Amida III; (3) Imina; (4) Ácido Carboxílico; (5) Álcool II e (6) Cetona.

As atribuições das bandas de absorção no infravermelho para cada amostra testada estão descritos na Tabela 2.

Tabela 3: Principais bandas observadas no espectro de FTIR para blendas gelatina + quitosana

BANDAS	Gel 1*	GEL 8	GEL 4*	GEL 5*	GEL 6*	GEL 7*	INTERPRETAÇÕES	REFERÊNCIAS
1	~1650	~1650	~1655	~1650	~1650	~1650	ν (CO) de amida II e δ (NH) de amina I ν (C=O) de amida II	BELLAMY, 1975 SALAZAR et al, 2014 TONHI e PLEPIS, 2002
2	NE	1565	NE	NE	NE	NE	δ (N-H) de amina primária	BELLAMY, 1975 TONHI e PLEPIS, 2002
3	~1547	NE	~1545	~1545	~1545	~1545	δ (NH) de amida II ν (NH) acoplado com o grupo CN (amida II)	SALAZAR et al, 2014
4	~1452	NE	~1452	~1453	~1452	~1452	δ (CH ₂)	BELLAMY, 1975
5	~1405	~1412	~1405	~1405	~1407	~1407	δ sim (OH) e ν (C-O) ν (C-N) de amida	BELLAMY, 1975 BELLAMY, 1975
6	~1335	NE	~1335	~1337	~1335	~1337	ν (CO) de álcool II e δ (OH)	BELLAMY, 1975
7	~1245	NE	~1245	~1245	~1245	~1245	Sinal característico de e amida III	BELLAMY, 1975) PRESTES et al, 2013 (MORAES et al., 2008)
8	~1082	~1080	~1082	~1082	~1082	~1082	ν (CN) ν (C-O-C) da estrutura piranosídica (éter), e ν (CO) de álcool I	PRESTES et al, 2013 BELLAMY, 1975 SALAZAR et al, 2014 TONHI e PLEPIS, 2002 (GARCIA et al., 2008)

* Gel 1- Gel 260.1 e 270.1; Gel 2 – Gel 260.2 e 270.2; Gel 4 – Gel 260.4 e 270.4; Gel 5 – Gel 260.5 e 270.5; Gel 6 – Gel 260.6 e 270.6 ; Gel 7 – Gel 260.7 e Gel 270.7 e Gel 8 – gel de quitosana 4%
NE – BANDA NÃO EVIDENCIADA

Os espectros obtidos para ambos conjuntos de blendas são caracterizados pelas bandas de gelatina, notando-se um ligeiro aumento na intensidade da banda de 1650cm^{-1} em relação ao espectro da quitosana evidenciando a presença de gelatina nas amostras. A banda em 1080cm^{-1} da quitosana é mais intensa e se sobrepõe aos valores encontrados para gelatina, evidenciando sua presença na blenda.

Estes valores sugerem incorporação da quitosana com a gelatina na blenda polimérica, contudo não é possível definir somente com espectroscopia vibracional de absorção na região do IV, se há interação química entre as substâncias, devido a sobreposição de bandas da gelatina e quitosana. De acordo com TONHI e PLEPIS

(2002), a interação pode ser puramente eletrostática envolvendo grupos $-NH$ da quitosana e $C=O$ da gelatina.

5.2. Análise termogravimétrica (TGA)

Os termogramas dos filmes formados a partir das blendas de gelatina 260 e 270 com quitosana, bem como da quitosana pura (em pó) e das gelatinas puras 260 e 270 (em pó), estão apresentados nas Figuras 16 e 17. Em ambos é possível notar uma perda de massa em dois estágios distintos, sendo o primeiro estágio correspondente a perda de 15% de água tanto nas blendas quanto nas substâncias puras (KAKKAR et al., 2014).

Figura 16: Curvas de TGA das blendas de gelatina 260 + quitosana

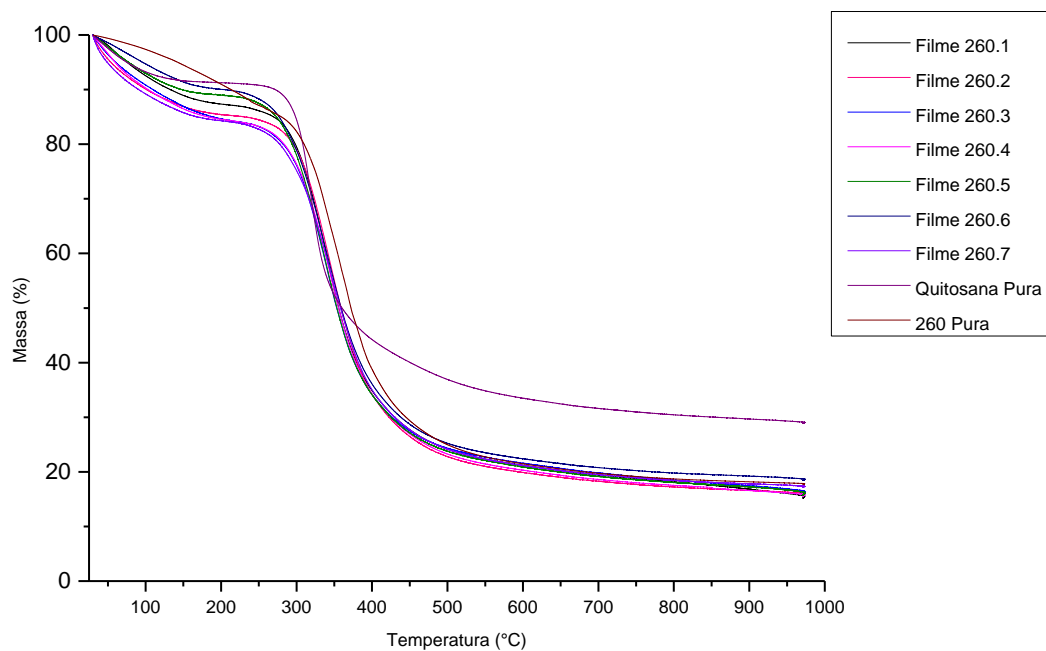
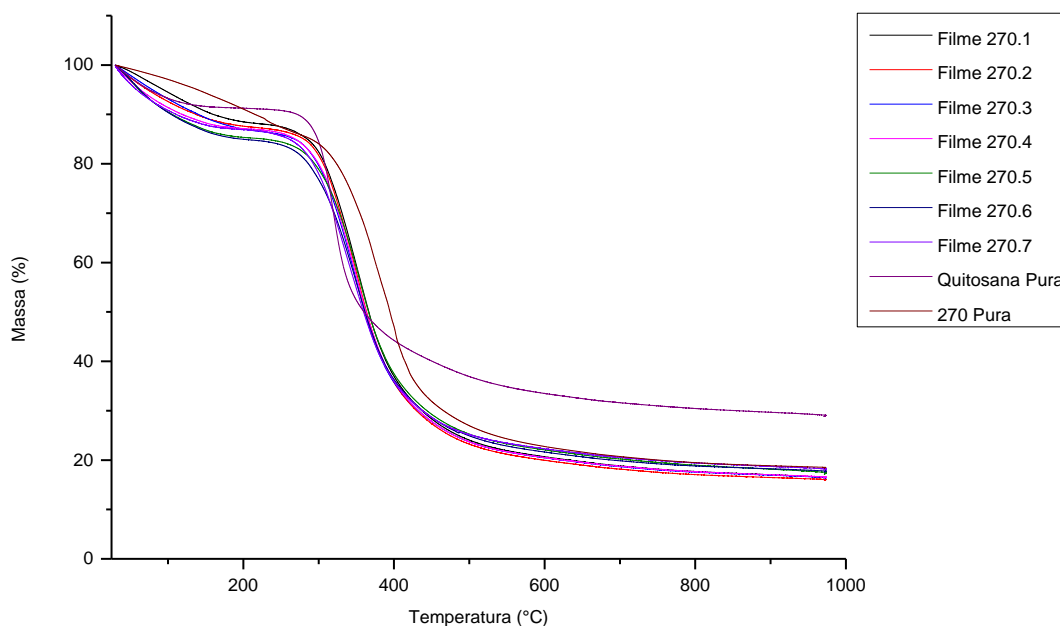


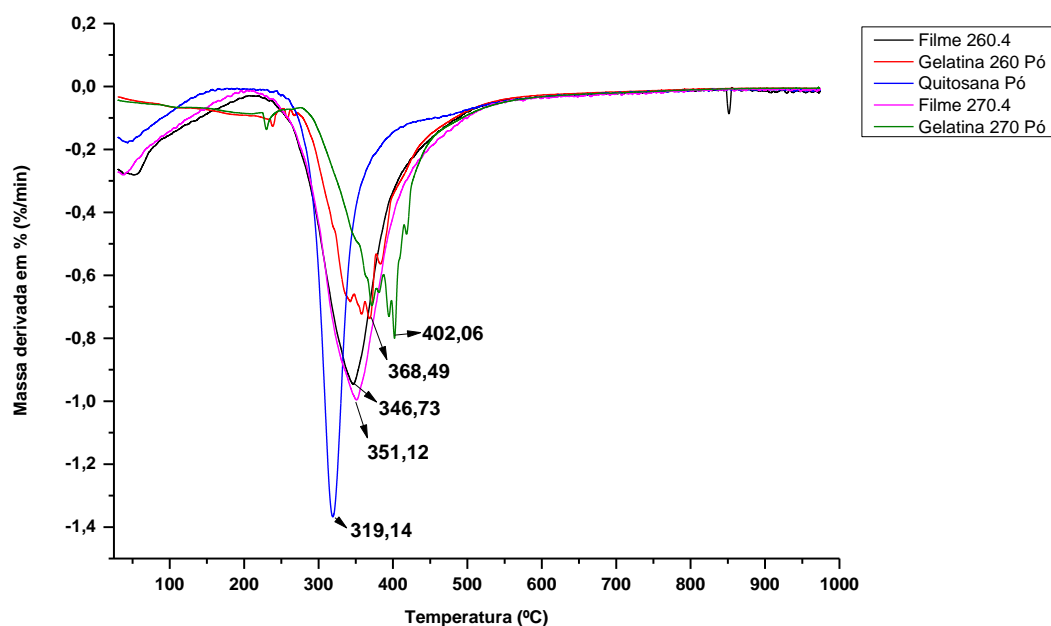
Figura 17: Curvas de TGA das blendas de gelatina 270 + quitosana



Avaliando os termogramas observou-se um segundo estágio na curva de decomposição térmica entre 250°C-500°C, correspondendo a 60% massa que foi perdida, restando cerca de 36% para quitosana pura e 26% para a gelatina pura em pó ou em gel (Gel 260.1 e 270.1). As blendas, no entanto, apresentaram resíduos em média de 23%. Estes valores de resíduos percentuais também foram relatados por JALAJA et al (2016) em um estudo com nanofibras de gelatina-quitosana.

Analisando as derivadas das curvas de TGA das blendas e substâncias puras (Figura 18), a temperatura de decomposição térmica da quitosana obtida foi em torno de 319°C, enquanto que para a gelatina pura em pó foi de 368°C (gelatina 260) e 402°C (gelatina 270). As blendas, no entanto, apresentaram temperaturas por volta dos 340°C-351°C. Esse deslocamento de temperaturas de decomposição térmica para as blendas cujos valores estão entre os valores obtidos para quitosana pura e gelatina pura sugere uma combinação entre estes componentes para compor a mistura (JALAJA et al., 2016).

Figura 18: Curvas das derivadas dos termogramas das blendas, gelatinas puras e quitosana pura



Os demais termogramas das derivadas de cada material analisado podem ser vistos no Anexo A.

5.3. Ensaios de calorimetria exploratória diferencial (DSC)

Os testes foram efetuados nos conjuntos de filmes formados pelas blendas de gelatina 260 (Filmes 260.2 a 260.7) e gelatina 270 (Filmes 270.2 a 270.7). E, para efeito de comparação, analisou-se um filme só com gelatina 260 (Filme 260.1), outro filme somente com gelatina 270 (Filme 270.1) e quitosana pura em pó (QT). Foi usado o pó da substância devido ao fato do gel de quitosana a 4% não ter formado filme em decorrência da consistência do gel e do alto teor de umidade do mesmo.

Em todas as curvas de DSC encontradas nas Figura 19 e 20, é possível notar um pico endotérmico por volta de 70°C, que como descrito por GUINESI e CAVALHEIRO (2006), pode estar relacionado à perda de água.

Figura 19: DSC dos filmes formados pelas blendas de gelatina 260 e quitosana

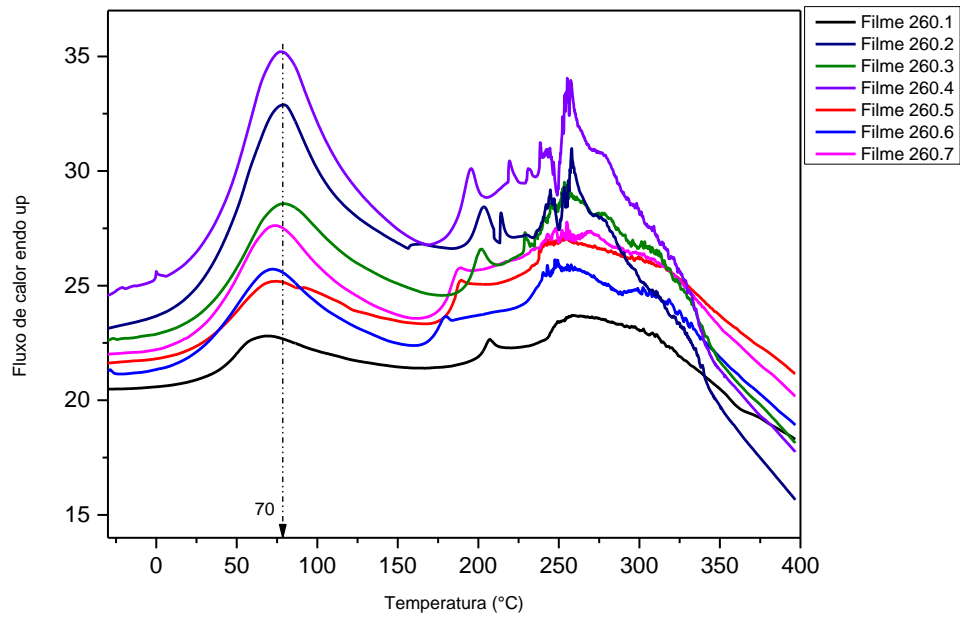
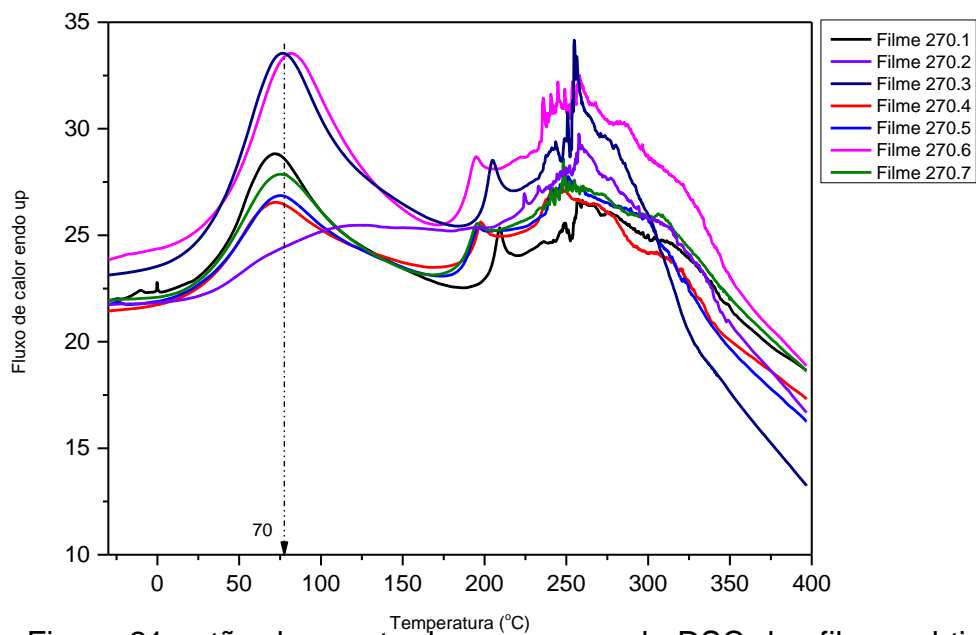


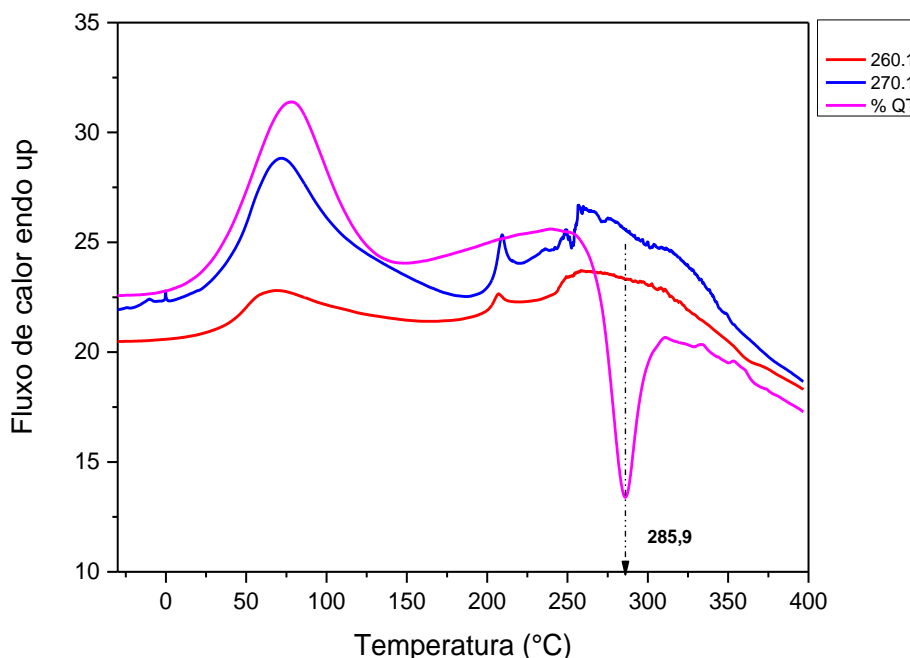
Figura 20: DSC dos filmes formados pelas blendas de gelatina 270 e quitosana



Na Figura 21 estão demonstradas as curvas de DSC dos filmes obtidos com os géis de gelatina puros (260 e 270), sem a combinação com quitosana, e a curva obtida da análise do quitosana em pó que, como já dito anteriormente, o gel não proporcionou a formação do filme. Nesta análise observou-se que o evento térmico mais característico está relacionado à quitosana sendo um pico exotérmico em torno de 286°C que pode estar relacionado à decomposição das unidades de amina (-NH)

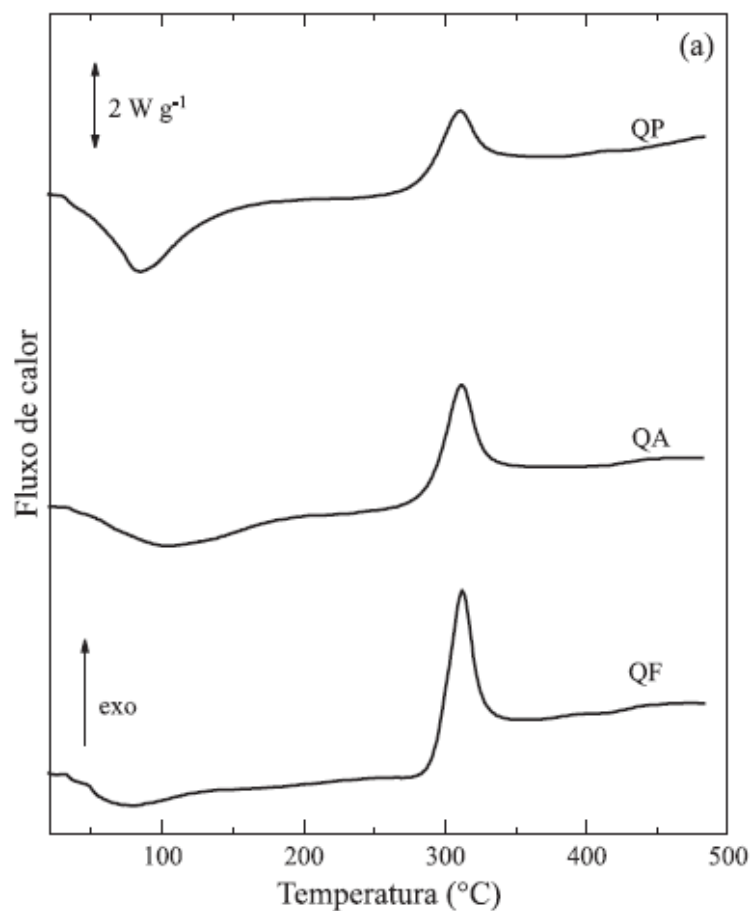
com clivagem dos grupos N-Acetil deste composto como relatado por KITTUR et al (2002).

Figura 21: Curvas de DSC da quitosana e filmes de gelatina pura



Este pico foi relatado por SANTOS et al (2003) em um estudo de caracterização de quitosanas comerciais como pode ser visto na Figura 22, reproduzida na sequência para fins de comparação com a curva de DSC de quitosana encontradas nesse estudo. Segundo o referido autor, as amostras apresentam diferentes Graus de desacetilação (GD), mas apenas a quitosana identificada como QA (Aldrich®) no referido artigo foi identificada com GD de 84,7%, semelhante à quitosana usada neste estudo que, como já dito, possui GD de 84,1%. As demais amostras descritas pelo autor são QF (Fluka®) e QP (Polymar/Br). Todas obtidas de exoesqueletos de caranguejo e somente a amostra QA foi identificada com grau de desacetilação.

Figura 22: Curvas DSC para amostras comerciais de quitosana

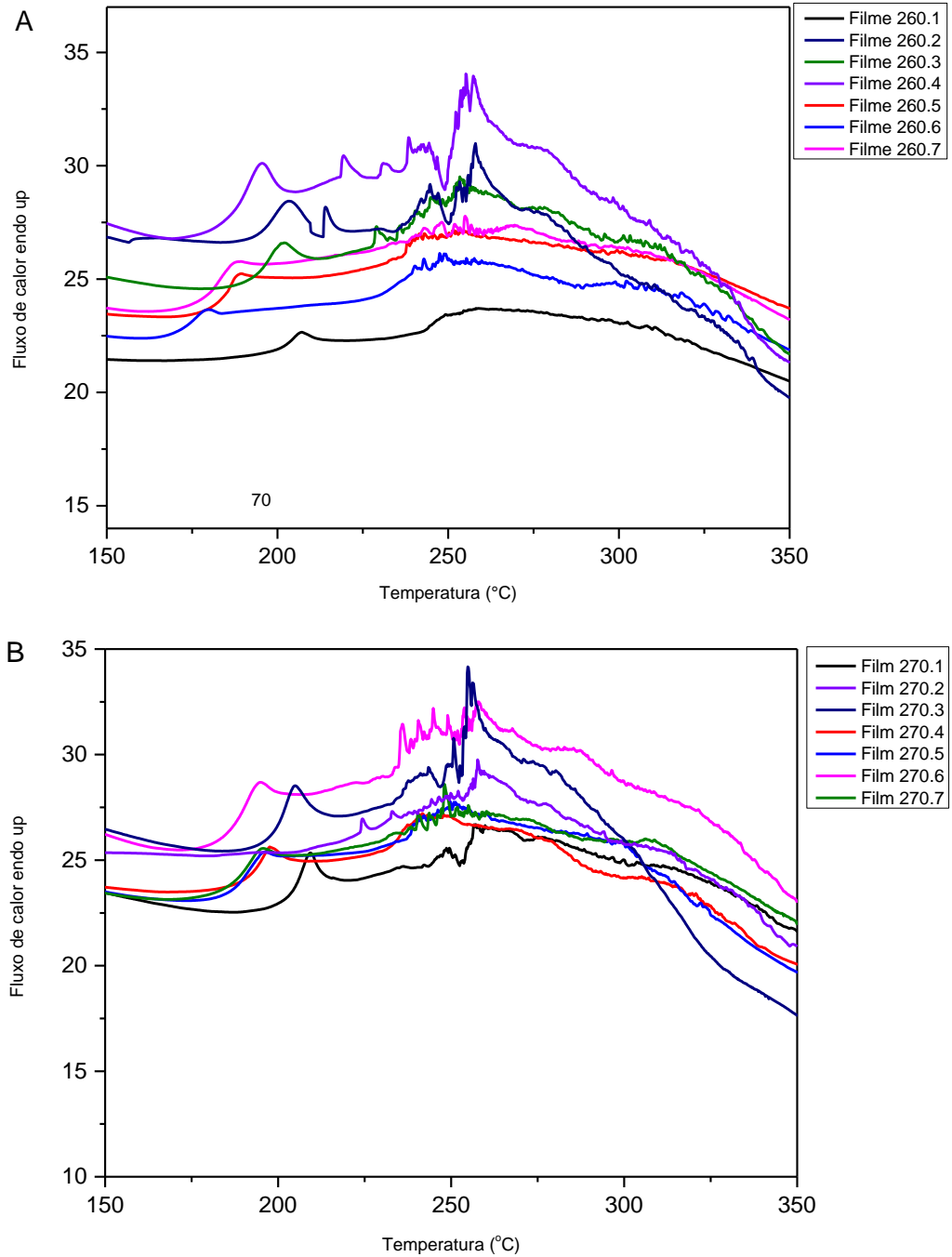


Fonte: SANTOS et al., 2003

Na análise das blendas, este pico característico encontrado para a quitosana não aparece nas curvas de DSC das combinações de gelatina e quitosana (Figura 23). O seu desaparecimento nos compostos formados sugere ligação química entre a gelatina e a quitosana e não apenas interação eletrostática como sugerido por TONHI e PLEPIS (2002).

As curvas de DSC para as blendas apresentaram-se muito semelhantes as das curvas obtidas com as análises dos filmes contendo somente gelatina (Figura 21). As curvas apresentaram eventos endotérmicos evidentes na região de 225 a 275°C, caracterizando umidade nas amostras, não sendo possível, por esse motivo, determinar a temperatura de transição vítrea (T_g) e temperatura de fusão cristalina (T_m) dos compostos.

Figura 23: Curvas de DSC dos filmes obtidos a partir das blendas de gelatina 260 e 270 e quitosana



Legenda: Curvas DSC para blendas (A) Filmes com gelatina 260 e (B) Filmes com gelatina 270.

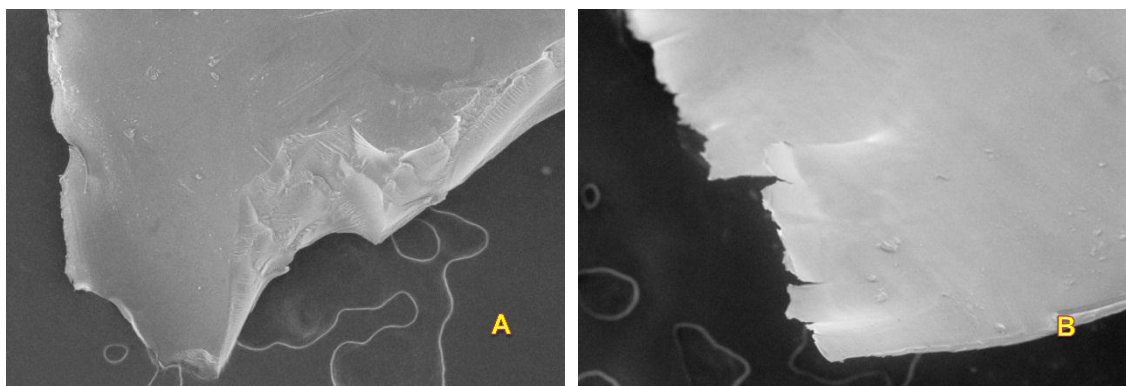
5.4. Microscopia eletrônica de varredura (MEV)

Esta análise de caracterização foi efetuada para observar a incorporação da gelatina e quitosana nas blendas.

Conforme pode ser visto nas Figuras 25 e 26, com magnificância de 200, a análise superficial foi caracterizada como interação física homogênea entre os componentes da mistura das blendas, não notando-se diferenciação entre os mesmos. O aspecto apresentado é bem similar ao dos filmes de gelatina pura (Figura 24). Conforme QUENTAL et al (2010) a apresentação de uma única fase na blenda, visível em MEV, caracteriza uma mistura homogênea.

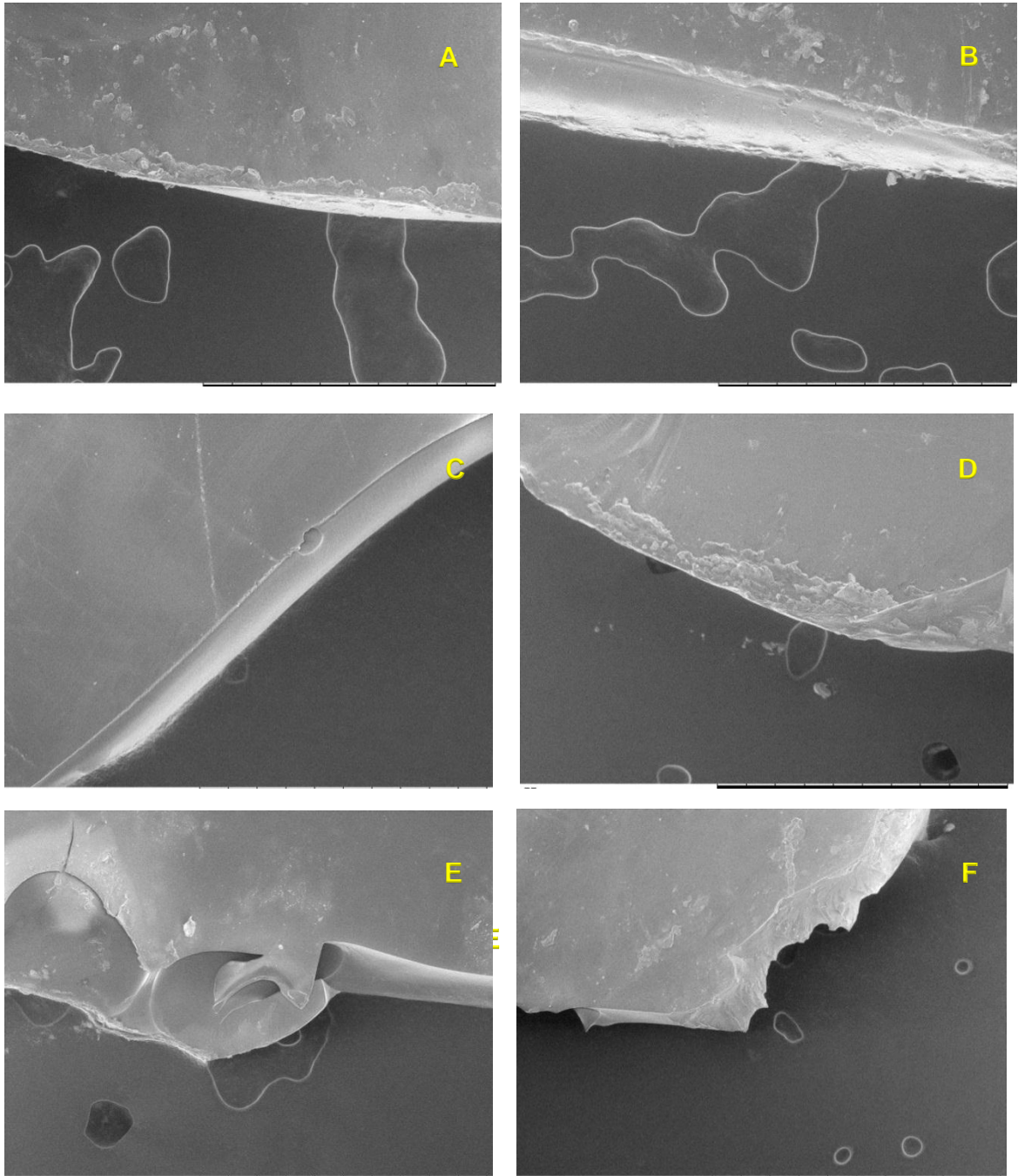
As figuras obtidas demonstram uma única fase, indicando a formação de uma mistura homogênea o que sugere que os componentes das blendas são miscíveis.

Figura 24: Microscopia eletrônica de varredura da superfície dos filmes de gelatinas puras



Legenda: (A) Filme 260.1; (B) Filme 270.

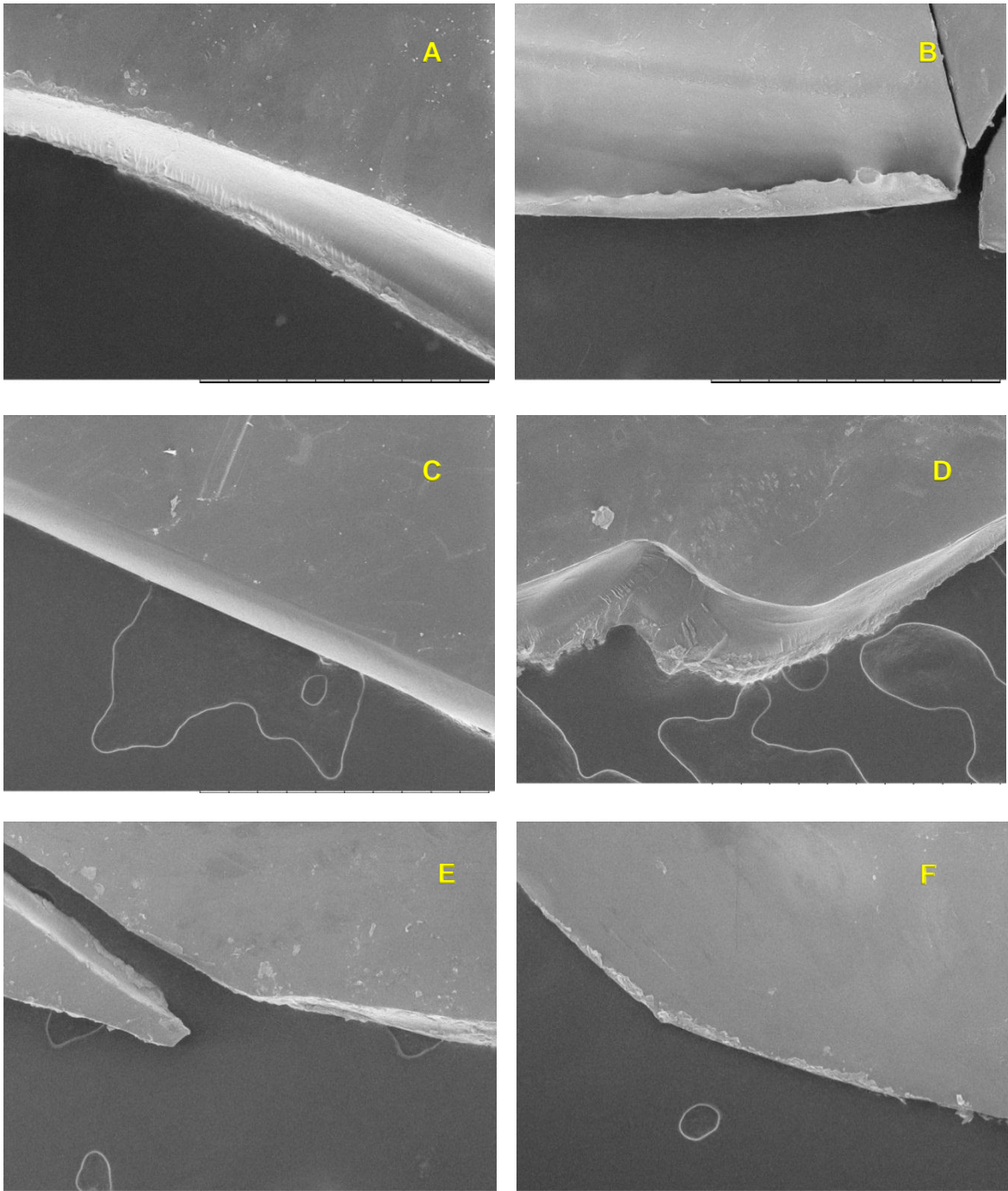
Figura 25: Microscopia eletrônica de varredura da superfície dos filmes obtidos das blendas 260



Fonte: foto tirada pelo(a) Autor(a).

Legenda: (A) Filme 260.2; (B) Filme 260.3; (C) Filme 260.4; (D) Filme 260.5; (E) Filme 260.6; (F) Filme 260.7

Figura 26: Microscopia eletrônica de varredura da superfície dos filmes obtidos das blendas 270



Fonte: foto tirada pelo(a) Autor(a).

Legenda: (A) Filme 270.2 (B) Filme 270.3; (C) Filme 270.4; (D) Filme 270.5; (E) Filme 270.6; (F) Filme 270.7.

5.5. Análise de pH

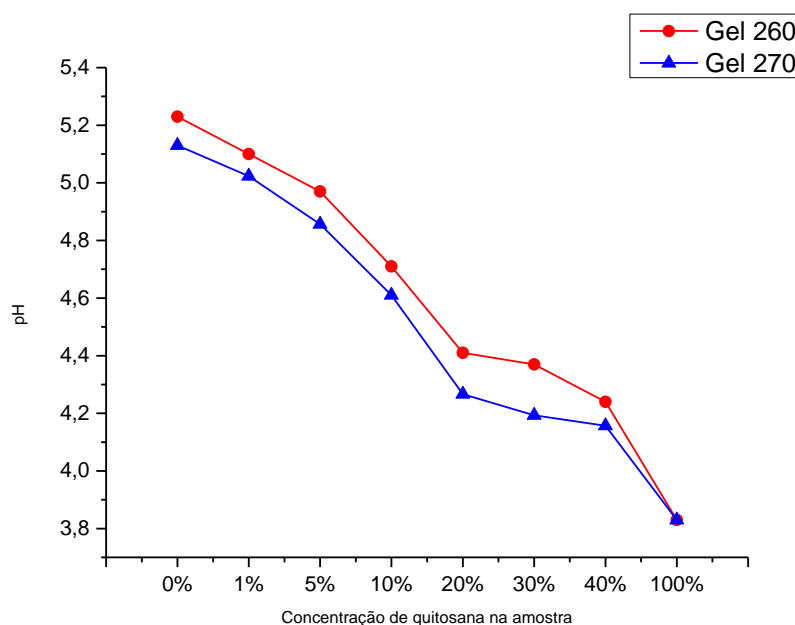
O objetivo destes ensaios foi a verificação das condições de acidez ou basicidade das blendas (géis) formadas em comparação o gel de gelatina (260 e 270) e a solução de quitosana a 4%. Os ensaios foram feitos em triplicata e foram calculados a média e desvio padrão dos resultados, dispostos na Tabela 3.

Tabela 4: Valores de pH obtidos para blendas quitosana-gelatina

AMOSTRA	pH	AMOSTRA	pH
GEL 260.1	5,23 ± 0,02	GEL 270.1	5,13 ± 0,10
Gel 260.2	5,1 ± 0,05	Gel 270.2	5,02 ± 0,10
Gel 260.3	4,97 ± 0,05	GEL 270.3	4,86 ± 0,12
Gel 260.4	4,71 ± 0,04	GEL 270.4	4,61 ± 0,36
Gel 260.5	4,41 ± 0,04	GEL 270.5	4,27 ± 0,08
Gel 260.6	4,38 ± 0,04	GEL 270.6	4,19 ± 0,09
Gel 260.7	4,25 ± 0,07	GEL 270.7	4,16 ± 0,08
Gel 8	3,83 ± 0,06	Gel 8	3,83 ± 0,06

A solução de quitosana 4% é obtida com dissolução da substância em solução de ácido acético a 5% (m/v) e portanto seu pH, em média, é de caráter ácido em torno dos 3,83. Já a solução de gelatina pura (Gel 260.1 e 270.1) obtida pela dissolução de gelatina bovina 260 ou 270 em água quente, mesmo com adição de ácido acético, apresenta um valor de pH médio entre 5,0 – 5,5.

Figura 27: Gráfico de pH X concentração de quitosana nas amostras



Aumentando-se a concentração de quitosana nas blendas formadas (de 1% a 40%) nota-se um decréscimo nos valores de pH obtidos nos géis em decorrência da acidificação do meio em função do ácido acético presente nas misturas (Figura 27).

5.6. Desintegração dos filmes

A absorção de fármacos a partir de formas farmacêuticas sólidas, tais como cápsulas e comprimidos, quando administradas por via oral, depende da liberação, e da dissolução ou solubilização do fármaco em condições fisiológicas. A dissolução é um ensaio físico-químico efetuado para estabelecer a quantidade de partículas sólidas liberadas para uma determinada área em um tempo previamente estabelecido. O perfil de dissolução traçado relaciona a porcentagem de fármaco dissolvido em função do tempo avaliado (SCHESHOWITSCH et al., 2007).

Para ocorrer a dissolução do fármaco, a forma farmacêutica sólida (comprimido ou cápsula) deve antes desintegrar no estômago ou intestino. A desintegração caracteriza-se pela abertura ou rompimento da parede da cápsula ou quebra da estrutura do comprimido, em qualquer um dos meios usados nos testes e descritos acima, no decorrer do tempo avaliado. Assim que rompido a forma, espera-se que o material em seu interior seja disponibilizado no meio e esteja disponível para ser absorvido no organismo (AULTON, 2005). Em se tratando de cápsulas, espera-se que o invólucro esteja fragmentado ou tenha formado uma massa pastosa no cesto utilizado no equipamento (SCHESHOWITSCH et al., 2007).

A Farmacopéia Brasileira 5ª edição estabelece que em meio aquoso a desintegração de cápsulas simples (de gelatina ou hidroxipropilmetilcelulose – HPMC), deve ocorrer em no máximo 30 minutos decorridos do início do teste efetuado em equipamento de desintegração com banho de aquecimento a 37°C, em cujas cubas são colocadas água à mesma temperatura. Para ser considerada entérica, a cápsula não deve apresentar desintegração em solução de ácido clorídrico 0,1Mol L⁻¹ por um tempo inferior a 60 minutos e deve desintegrar-se em solução tampão fosfato pH 6,8 em até 45 minutos decorridos do início do teste.

Os filmes obtidos a partir das blendas de gelatina e quitosana, foram testados quanto à desintegração para avaliar o tempo decorrido para que os mesmos apresentassem ruptura ou perdessem a forma e então, pudessem liberar fármacos para o meio.

A gelatina é praticamente insolúvel em água fria, porém em água quente hidrata-se prontamente formando um gel viscoso que endurece quando esfriado, caracterizando bem este material como termo reversível. No entanto a gelatina não é solúvel em álcool e solventes orgânicos, mas apresenta solubilidade elevada em soluções ácidas e pH neutro (ARVANITTOYANNIS; NAKAYAMA; AIBA, 1998). Já a quitosana é insolúvel em água, solventes orgânicos e bases, porém apresenta solubilidade em soluções ácidas orgânicas com pH inferior a 6,0.

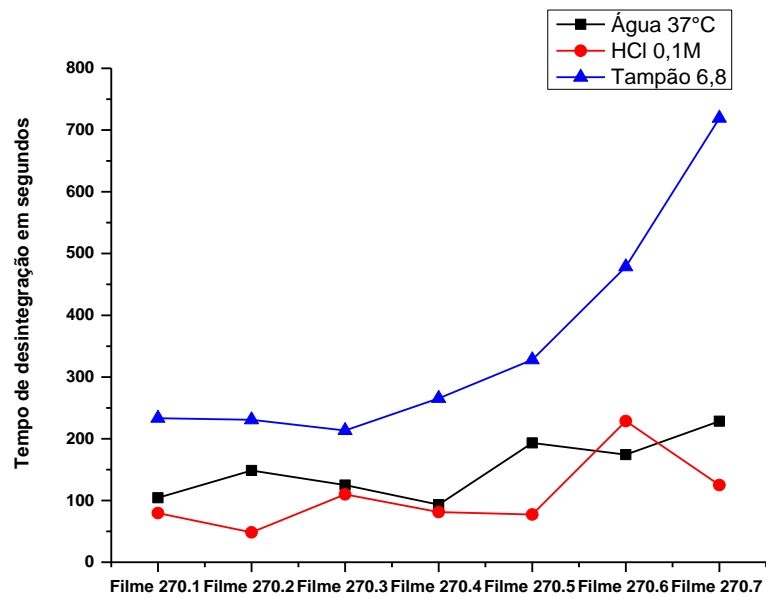
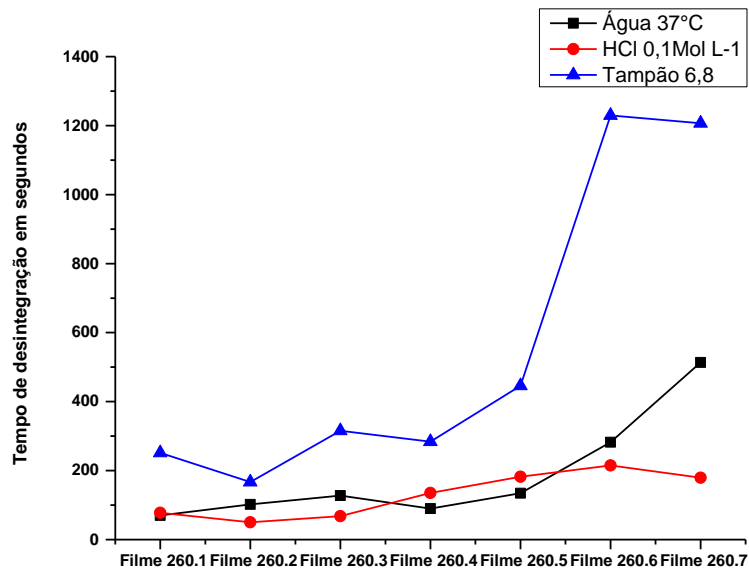
Desta forma, os filmes formados pelas blendas de quitosana-gelatina foram testados quanto à sua desintegração em água a 37°C, HCl 0,1Mol L⁻¹ e tampão fosfato pH 6,8, simulando os processos de desintegração de cápsulas duras descritos na Farmacopeia 5ª edição. Os resultados foram obtidos em triplicata (Tabela 4) sendo calculados a média e o desvio padrão.

Tabela 5: Tempos de desintegração (em segundos) dos filmes poliméricos

MÉDIA DOS TEMPOS DE DESINTEGRAÇÃO EM SEGUNDOS			
AMOSTRA	ÁGUA QUENTE A 37°C	HCl 0,1M	TAMPÃO FOSFATO pH 6,8
Filme 260.1	70 ± 17	78 ± 18	251 ± 44
Filme 260.2	102 ± 19	50 ± 12	167 ± 13
Filme 260.3	128 ± 9	68 ± 10	316 ± 6
Filme 260.4	90 ± 7	135 ± 33	284 ± 43
Filme 260.5	134 ± 5	182 ± 66	446 ± 12
Filme 260.6	282 ± 21	215 ± 122	1230 ± 41
Filme 260.7	513 ± 13	179 ± 99	1207 ± 4
Filme 270.1	104 ± 9	80 ± 38	233 ± 42
Filme 270.2	149 ± 1	48 ± 21	231 ± 36
Filme 270.3	125 ± 33	110 ± 29	213 ± 19
Filme 270.4	93 ± 5	81 ± 38	265 ± 44
Filme 270.5	193 ± 9	77 ± 38	328 ± 67
Filme 270.6	174 ± 44	229 ± 60	479 ± 86
Filme 270.7	228 ± 6	125 ± 47	719 ± 175

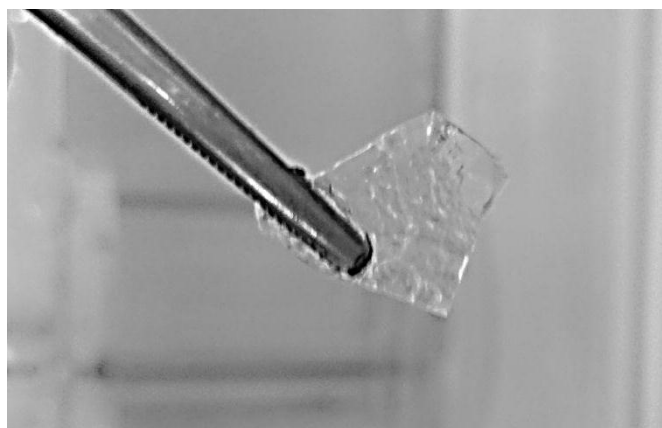
As blendas apresentaram aumento do tempo de desintegração quando relacionadas ao aumento da quantidade de quitosana na mistura. Isto foi notadamente mais acentuado para os testes de desintegração efetuados em tampão fosfato pH 6,8 (Figura 28).

Figura 28: Tempo de desintegração X concentração de quitosana nas amostras



O aspecto do filme 260.6 após cerca de 15 minutos em solução tampão fosfato pH 6,8 foi caracterizado como ruptura e não desintegração, como pode ser visto na Figura 29.

Figura 29: Fotografia do filme após cerca de 15 minutos de desintegração em tampão fosfato pH 6,8



Fonte: foto tirada pela autora

6. CONCLUSÃO

Os testes de caracterizações efetuados nesse trabalho levaram às seguintes conclusões:

1. Nas blendas formadas as bandas encontradas na espectroscopia vibracional de absorção na região do infravermelho foram similares as bandas da gelatina sendo estas predominantes frente às bandas encontradas para a quitosana;
2. A análise termogravimétrica demonstrou que a decomposição térmica das blendas encontra-se em valores de temperatura deslocadas entre os valores obtidos para quitosana e gelatinas puras, sugerindo uma combinação entre estes componentes nas blendas;
3. As curvas de DSC das blendas são similares às das gelatinas, sendo que o pico exotérmico encontrado encontrado para quitosana não foi detectado nas blendas, sugerindo uma ligação química entre os componentes. Não foi possível encontrar a temperatura de transição vítrea na análise devido à temperatura do vapor de água presente nas amostras;
4. Nas análises morfológicas das superfícies ficou caracterizado que as blendas são homogêneas indicando que os componentes são miscíveis;
5. O valor de pH diminui de acordo com o aumento da concentração de quitosana na amostra;
6. Os valores obtidos para os tempos decorridos de desintegração dos filmes demonstraram que a quantidade de quitosana presente na amostra influencia neste tempo, prolongando o efeito de ruptura ou abertura do filme.

Os resultados obtidos permitiram julgar promissor o desenvolvimento das blendas para formação de filmes desintegráveis que poderão ser usados na formação de cápsulas duras ou como filmes de desintegração ácida prolongada. O trabalho gerou um pedido de patente de invenção junto ao INPI (Instituto Nacional de Propriedade Industrial), sob número de processo BR 10 2017 002388 5 (Anexo R).

Entretanto, novos estudos devem ser conduzidos para demonstrar a termorreversibilidade das blendas e sua aplicação para uso entérico.

7. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

AKCELRUD, L. **Fundamentos da ciência dos polímeros**. 1ª edição ed. Barueri: Manole Editora, 2007.

ARVANITOYANNIS, I. S.; NAKAYAMA, A.; AIBA, S. Chitosan and gelatin based edible films: state diagrams, mechanical and permeation properties. **Carbohydrate Polymers**, v. 37, n. 4, p. 371–382, 1998.

AULTON, M. E. **Delineamento de formas farmacêuticas**. 2ª edição ed. porto alegre: artmed, 2005.

BARROS, F. C. F.; CAVALCANTE, R. M.; CARVALHO, T. V.; FRANCISCO, S.; QUEIROZ, D. C.; VASCONCELLOS, L. C. G. Produção e caracterização de esfera de quitosana modificada quimicamente. **Revista Iberoamericana de Polímero**, v. 7, n. 4, p. 232–246, 2006.

BELLAMY, L. J. **The infrared spectra of complex molecules**. 3ª edition ed. London: Chapman and Hall, 1975.

BIGI, A.; PANZAVOLTA, S.; RUBINI, K. Relationship between triple-helix content and mechanical properties of gelatin films. **Biomaterials**, v. 25, n. 25, p. 5675–5680, 2004.

BRASIL. **Farmacopeia brasileira**. 5ª edição ed. Brasília: ANVISA, 2010.

BRASIL. **Vocabulário controlado de formas farmacêuticas, vias de administração e embalagens de medicamentos**. 1ª edição ed. Brasília: ANVISA, 2011.

BUREY, P.; BHANDARI, B. R.; HOWES, T.; GIDLEY, M. J. Hydrocolloid gel particles: formation, characterization, and application. **Critical reviews in food science and nutrition**, v. 48, n. 789190280, p. 361–377, 2008.

CARVALHO, R. A.; MARIA, T. M. C.; MORAES, I. C. F.; BERGO, P. V. A.; KAMIMURA, E. S.; HABITANTE, A. M. Q. B.; SOBRAL, P. J. A. Study of some physical properties of biodegradable films based on blends of gelatin and poly(vinyl alcohol) using a response-surface methodology. **Materials Science and Engineering C**, v. 29, n. 2, p. 485–491, 2009.

CASSU, S. N.; FELISBERTI, M. I. Comportamento dinâmico-mecânico e relaxações em polímeros e blendas poliméricas. **Revista Química Nova**, v. 28, n. 2, p. 255–263, fev. 2005.

CHEN, C. H.; WANG, F. Y.; MAO, C. F.; LIAO, W. T.; HSIEH, C. D. Studies of chitosan: II. Preparation and characterization of chitosan/poly(vinyl alcohol)/gelatin ternary blend films. **International Journal of Biological Macromolecules**, v. 43, n. 1, p. 37–42, 2008.

CHEN, T.; EMBREE, H. D.; BROWN, E. M.; TAYLOR, M. M.; PAYNE, G. F. Enzyme-catalyzed gel formation of gelatin and chitosan: Potential for in situ applications. **Biomaterials**, v. 24, n. 17, p. 2831–2841, 2003.

CHUNG, M.-C.; SILVA, A. T. D. A.; CASTRO, L. F.; GÜIDO, R. V. C.; NASSUTE, J. C.; FERREIRA, E. I. Latenciação e formas avançadas de transporte de fármacos. **Revista Brasileira de Ciências Farmacêuticas**, v. 41, n. 2, p. 155–180, 2005.

CREMINÁCIO, M. s.; VALENTE, B.; FOPPA, T.; SILVA, M. A. S. Estudo da

gastroresistência induzida pelo formaldeído em cápsulas de gelatina dura contendo alendronato de sódio. **revista brasileira de farmácia**, v. 89, n. 3, p. 264–266, mar. 2008.

CUI, Y.; XIE, M.; SONG, X. **Gelatin Capsule Shell cross-linking**. Disponível em: <<http://www.pharmtech.com/gelatine-capsule-shell-cross-linking-0>>. Acesso em: 3 abr. 2015.

DA SILVA, T. F.; PENNA, A. L. B. Colágeno: Características químicas e propriedades funcionais. **Rev Inst Adolfo Lutz**, v. 71, n. 3, p. 530–539, 2012.

DHANDAYUTHAPANI, B.; KRISHNAN, U. M.; SETHURAMAN, S. Fabrication and characterization of chitosan-gelatin blend nanofibers for skin tissue engineering. **Journal of Biomedical Materials Research - Part B Applied Biomaterials**, v. 94, n. 1, p. 264–272, 2010.

DIXIT, R. P.; PUTHLI, S. P. Oral strip technology: Overview and future potential. **Journal of Controlled Release**, v. 139, n. 2, p. 94–107, 2009.

DONG, Z.; WANG, Q.; DU, Y. Alginate/gelatin blend films and their properties for drug controlled release. **Journal of Membrane Science**, v. 280, n. 1–2, p. 37–44, 2006.

DUARTE, F. O. S. **Propriedades funcionais do colágeno e sua função no tecido muscular** Universidade Federal de Goiás. [s.l.: s.n.]. Disponível em: <<http://www.ebah.com.br/content/ABAAAe6xwAG/propriedades-colageno>>. Acesso em: 11 out. 2015.

FAI, A. E. C.; MONTENEGRO STAMFORD, T. C.; MONTENEGRO STAMFORD, T. L. Potencial biotecnológico de quitosana em sistemas de conservação de alimentos. **Revista Iberoamericana de Polímeros**, v. 9, n. 5, p. 435–451, 2008.

FILHO, S. P. C.; SIGNINI, R.; CARDOSO, M. B. Propriedades e Aplicações da Quitosana. **Processos Químicos**, v. 1, p. 9–20, 2007.

GARCIA, R. B.; COSTA, D. L. P. D. S. E. M.; RAFFIN, F. N.; RUIZ, N. M. D. S. Avaliação de géis obtidos a partir da acetilação da quitosana em meio heterogêneo. **Química Nova**, v. 31, n. 3, p. 486–492, 2008.

GEORGE, M.; ABRAHAM, T. E. Polyionic hydrocolloids for the intestinal delivery of protein drugs : Alginate and chitosan — a review. **Journal of Controlled Release**, v. 114, p. 1–14, 2006.

GONSALVES, A. de A.; ARAÚJO, C. R. M. Diferentes estratégias para reticulação de quitosana. **Revista Química Nova**, v. 34, n. 7, p. 1215–1223, abr. 2011.

GUINESI, L. S.; CAVALHEIRO, E. T. G. The use of DSC curves to determine the acetylation degree of chitin/chitosan samples. **Thermochimica Acta**, v. 444, n. 2, p. 128–133, 2006.

HOFFMANN, E. M.; BREITENBACH, A.; BREITKREUTZ, J. Advances in orodispersible films for drug delivery. **Expert opinion on drug delivery**, v. 8, n. March, p. 299–316, 2011.

JALAJA, K.; NASKAR, D.; KUNDU, S. C.; JAMES, N. R. Potential of electrospun core-shell structured gelatin-chitosan nanofibers for biomedical applications. **Carbohydrate Polymers**, v. 136, p. 1098–1107, 2016.

KAKKAR, P.; VERMA, S.; MANJUBALA, I.; MADHAN, B. Development of

keratin-chitosan-gelatin composite scaffold for soft tissue engineering. **Materials Science and Engineering C**, v. 45, p. 343–347, 2014.

KITTUR, F. S.; HARISH PRASHANTH, K. V.; UDAYA SANKAR, K.; THARANATHAN, R. N. Characterization of chitin, chitosan and their carboxymethyl derivatives by differential scanning calorimetry. **Carbohydrate Polymers**, v. 49, n. 2, p. 185–193, 2002.

LEHNINGER, A. L.; NELSON, L. D.; COX, M. M. **Princípios de bioquímica**. 3ª edição ed. São Paulo: Sarvier, 2002.

LI, M.; WANG, Y.; CHEN, Y.; ZHANG, S. A luminescent ionogel based on an europium(III)-coordinated carboxyl-functionalized ionic liquid and gelatin. **Photochemical & photobiological sciences: Official journal of the European Photochemistry Association and the European Society for Photobiology**, v. 13, n. 7, p. 1025–30, 2014.

LOPES, C. M.; LOBO, J. M. S.; COSTA, P. Formas farmacêuticas de liberação modificada: polímeros hidrofílicos. **Revista Brasileira de Ciências Farmacêuticas**, v. 41, n. 2, p. 143–154, 2005.

LUCINDA, R. .; EVANGELISTA, R. . **Sistemas Transdêrmicos Para a Veiculação De Fármacos** *Pharmacia Brasileira* Brasília *Revista Infarma - CFF*, , 1999. .

MACHADO, L. C.; GNOATTO, S. A.; KLUPPEL, M. L. W. LIPOSSOMAS APLICADOS EM FARMACOLOGIA: Uma revisão da literatura. **Estud. Biol.**, v. 29, n. 67, p. 215–224, 2007.

MORAES, I. C.; SILVA, G. G. D. da; CARVALHO, R. A. de; HABITANTE, A. M. Q. B.; BERGO, P. V. A.; SOBRAL, P. J. do A. Influência do grau de hidrólise do poli (vinil álcool) nas propriedades físicas de filmes à base de blendas de gelatina e poli (vinil álcool) plastificados com. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v. 28, n. 2981, p. 738–745, 2008.

PATIL, P.; SHRIVASTAVA, S. K. Fast Dissolving Oral Films : a Novel Drug Delivery System. **International Journal of Science and Research (IJSR)**, v. 3, n. 7, p. 2088–2093, 2014.

PAWDE, S. M.; KALIM DESHMUCH. Characterization of polyvinyl alcohol/gelatin blend hydrogel films for biomedical applications. **Journal of Applied Polymer Science**, v. 109, p. 3431–3437, 2008.

PEPINO, R. .; PLEPIS, A. M. G.; MARTINS, V. C. A. **Estudo reológico de géis de quitosana e quitosana/gelatina em diferentes ácidos**. [s.l: s.n.].

PEZZINI, B. R.; SILVA, M. A. S.; FERRAZ, H. G. Formas farmacêuticas sólidas orais de liberação prolongada: sistemas monolíticos e multiparticulados. **Revista Brasileira de Ciências Farmacêuticas**, v. 43, n. 4, p. 12, 2007.

PODZECK, FRIDUM; JONES, B. **Pharmaceutical capsules**. 2ª edition ed. London: pharmaceutical press, 2004.

PRESTES, R. C.; GOLUNSKI, S. M.; TONIAZZO, G.; KEMPKA, A. P.; LUCCIO, M. Di. Caracterização da fibra de colágeno, gelatina e colágeno hidrolisado. **Revista Brasileira de Produtos Agroindustriais**, v. 15, n. 4, p. 375–382, 2013.

QUENTAL, A. C.; DE CARVALHO, F. P.; DOS SANTOS TADA, E.; FELISBERTI, M. I. Blendas de PHB e seus copolímeros: miscibilidade e

compatibilidade. **Química Nova**, v. 33, n. 2, p. 438–446, 2010.

RINAUDO, M. Chitin and chitosan : Properties and applications. **Progress in polymer science**, v. 31, p. 603–632, 2006.

ROTTA, J.; BARRETO, P. L. M.; MINATTI, E. **Determinação das propriedades mecânicas , difratométricas e térmicas de filmes de quitosana e hidroxipropilmetilcelulose (HPMC)**. Foz do Iguaçu: Anais do 10^o Congresso Brasileiro de Polímeros, 2009. .

SALAZAR, M. . . C.; MARTINS, V. C. A.; PLEPIS, A. M. . **Preparação e caracterização de nanopartículas de quitosana/gelatina e quitosana/colágeno: XXIV Congresso Brasileiro de Engenharia Biomédica**. [s.l: s.n.]. Disponível em: <http://www.canal6.com.br/cbeb/2014/artigos/cbeb2014_submission_132.pdf>.

SANTOS, J. E. dos; SOARES, J. D. P.; DOCKAL, E. R.; CAMPANA FILHO, S. P.; CAVALHEIRO, É. T. G. Caracterização de quitosanas comerciais de diferentes origens. **Polímeros: Ciência e Tecnologia**, v. 13, n. 4, p. 242–249, 2003.

SCHESHOWITSCH, K.; PEREIRA, A.; CRUZ, A.; SILVA, M. A. S.; STULZER, H. K. Avaliação da qualidade e perfil de dissolução de comprimidos de cloridrato de propranolol. **Latin American Journal of Pharmacy**, v. 26, n. 5, p. 645–651, 2007.

SIGNINI, R.; FILHO, S. P. C. Características e Propriedades de Quitosanas Purificadas nas Formas Neutra, Acetato e Cloridrato. **Polímeros: Ciência e Tecnologia**, v. 11, n. 2, p. 58–64, 2001.

SILVA, H. S. R. C.; KÁTIA, S. C. R.; FERREIRA, E. I. Quitosana: derivados hidrossolúveis, aplicações farmacêuticas e avanços. **Revista Química Nova**, v. 29, n. 4, p. 776–785, mar. 2006.

TONHI, E.; PLEPIS, A. M. de G. Obtenção e caracterização de blendas colágeno-quitosana. **Revista Química Nova**, v. 25, n. 6, p. 943–948, 2002.

TORRES, M. a.; VIEIRA, R. S.; BEPPU, M. M.; SANTANA, C. C. Produção e caracterização de microesferas de quitosana modificadas quimicamente. **Polímeros**, v. 15, n. 4, p. 306–312, 2005.

USP. **United States Pharmacopoeia and National Formulary (USP 37)** USP, 2014..

8. Anexos

ANEXO A – Representação do termograma de TGA com a derivada do filme formado apenas por gelatina 260 (Filme 260.1)

ANEXO B - Representação do termograma de TGA com a derivada do filme formado a partir da blenda 260.2 (Filme 260.2)

ANEXO C – Representação do termograma TGA com a derivada do filme formado a partir da blenda 260.3 (Filme 260.3)

ANEXO D - Representação do termograma TGA com a derivada do filme formado a partir da blenda 260.4 (Filme 260.4)

ANEXO E - Representação do termograma TGA com a derivada do filme formado a partir da blenda 260.5 (Filme 260.5)

ANEXO F - Representação do termograma TGA com a derivada do filme formado a partir da blenda 260.6 (Filme 260.6)

ANEXO G - Representação do termograma TGA com a derivada do filme formado a partir da blenda 260.7 (Filme 260.7)

ANEXO H - Representação do termograma de TGA com a derivada do filme formado apenas por gelatina 270 (Filme 270.1)

ANEXO I - Representação do termograma de TGA com a derivada do filme formado a partir da blenda 270.2 (Filme 270.2)

ANEXO J - Representação do termograma de TGA com a derivada do filme formado a partir da blenda 270.3 (Filme 270.3)

ANEXO K - Representação do termograma de TGA com a derivada do filme formado a partir da blenda 270.4 (Filme 270.4)

ANEXO L - Representação do termograma de TGA com a derivada do filme formado a partir da blenda 270.5 (Filme 270.5)

ANEXO M - Representação do termograma de TGA com a derivada do filme formado a partir da blenda 270.6 (Filme 270.2)

ANEXO N - Representação do termograma de TGA com a derivada do filme formado a partir da blenda 270.7 (Filme 270.7)

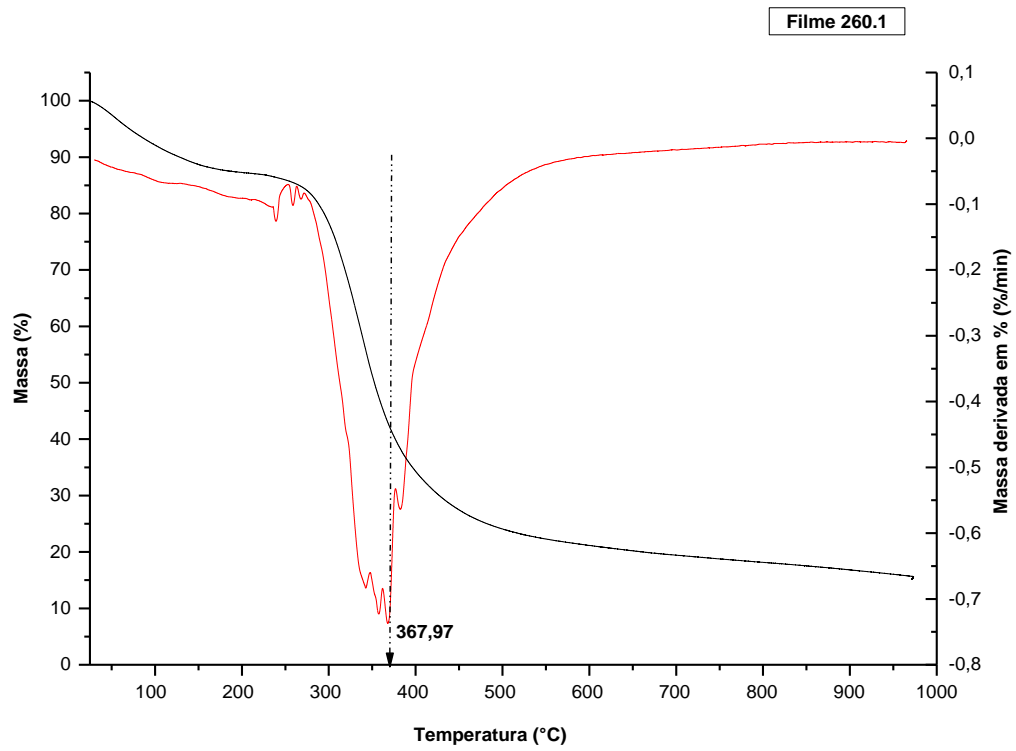
ANEXO O - Representação do termograma de TGA com a derivada da quitosana pó pura

ANEXO P - Representação do termograma de TGA com a derivada da gelatina 260 pó pura

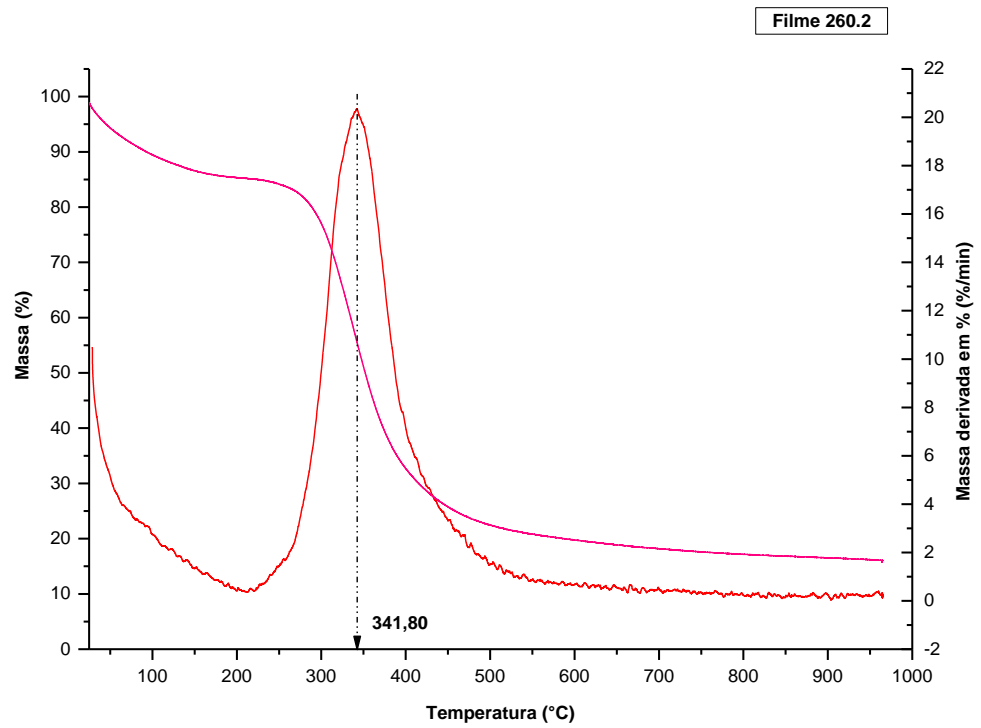
ANEXO Q - Representação do termograma de TGA com a derivada da gelatina 270 pó pura

ANEXO R – Protocolo do pedido de patente de invenção junto ao INPI, sob número BR 10 2017 002388 5.

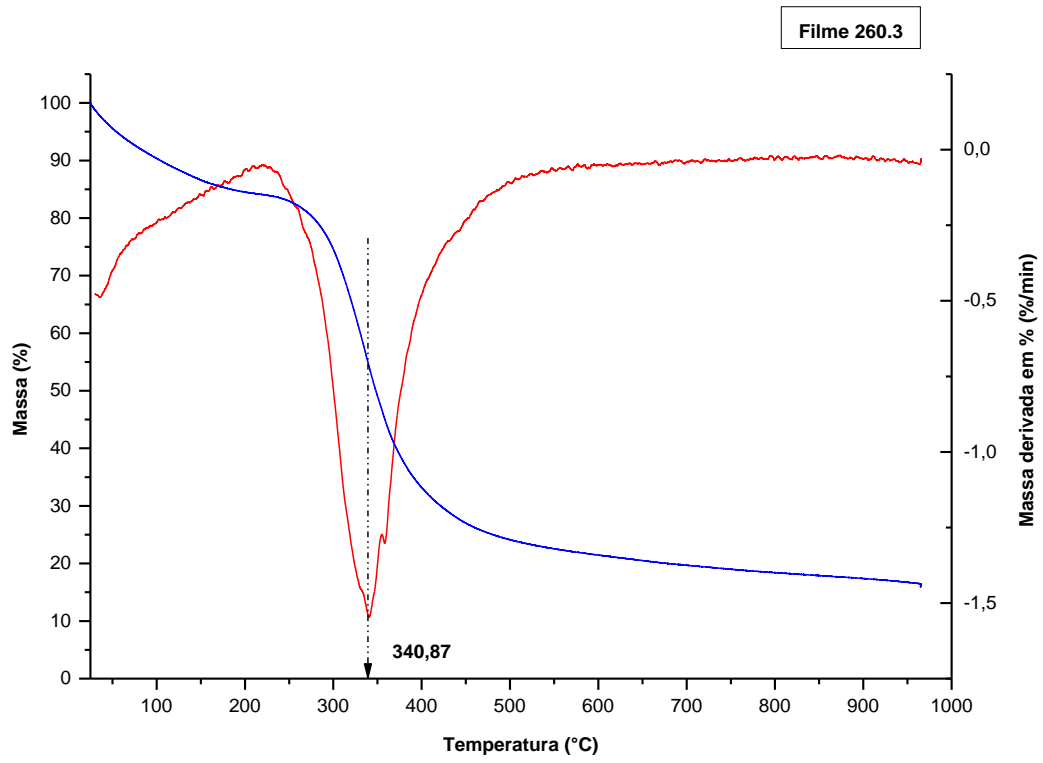
ANEXO A



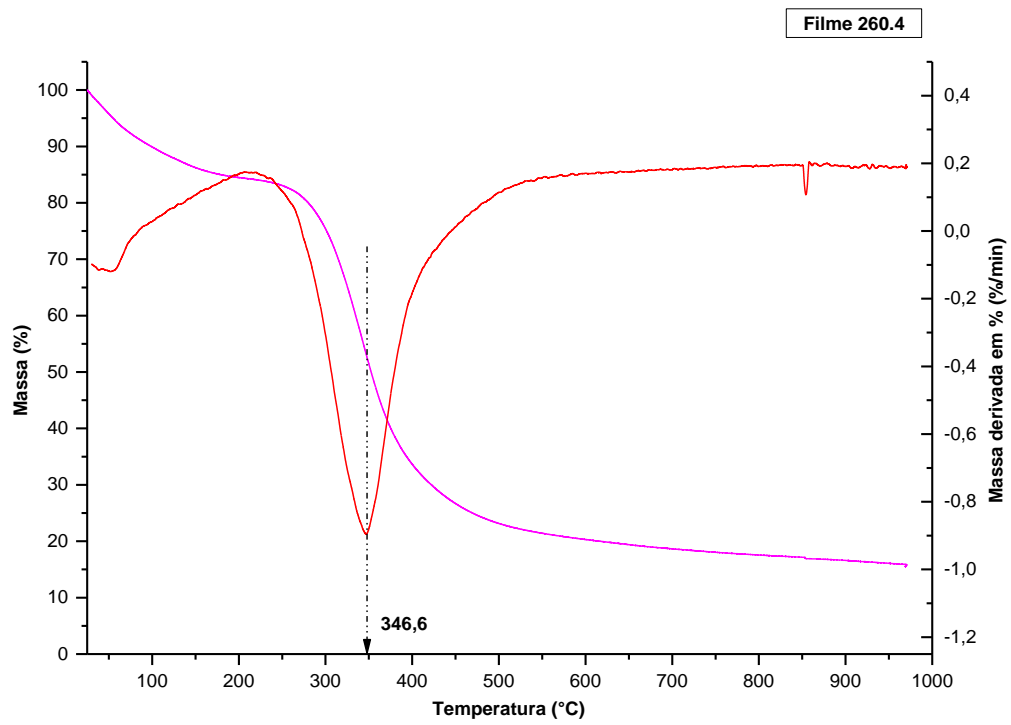
ANEXO B



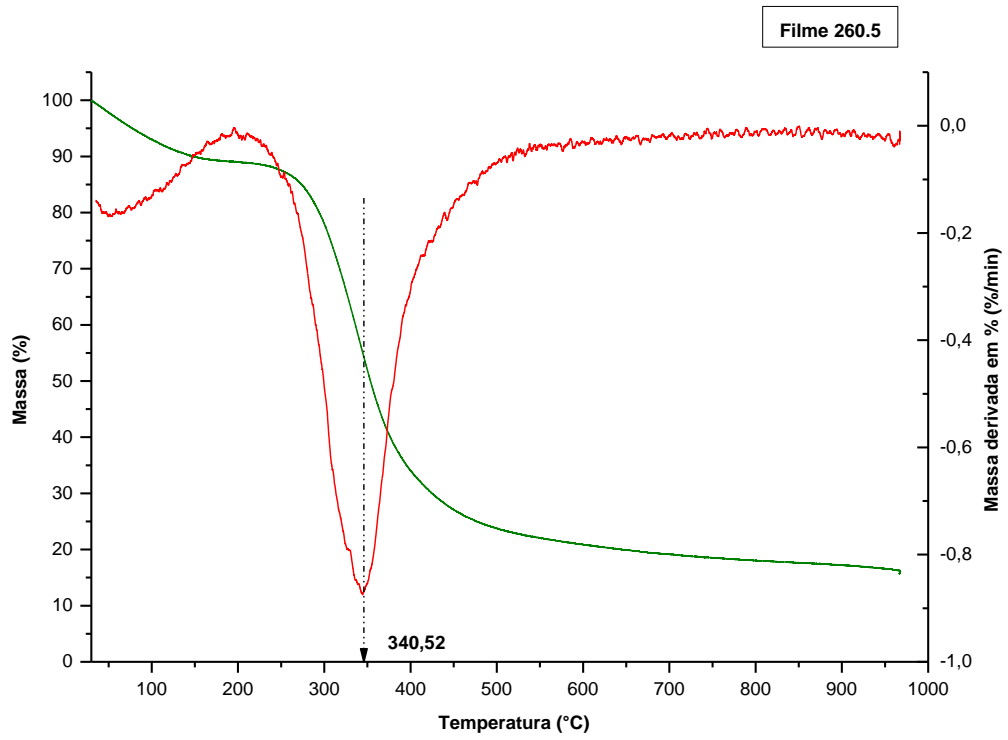
ANEXO C



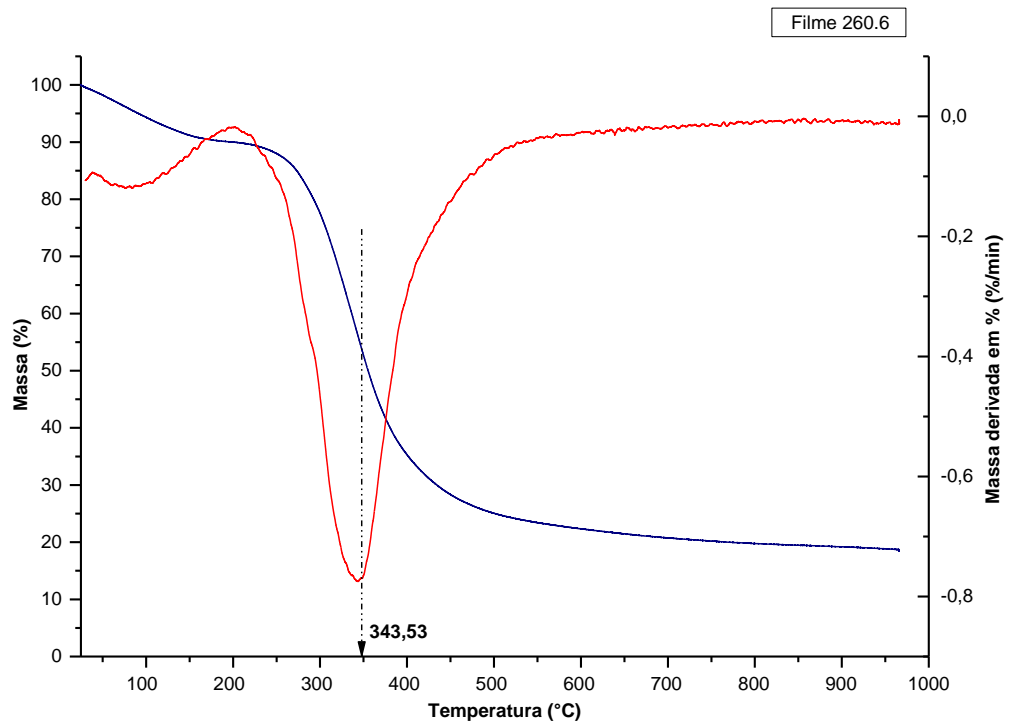
ANEXO D



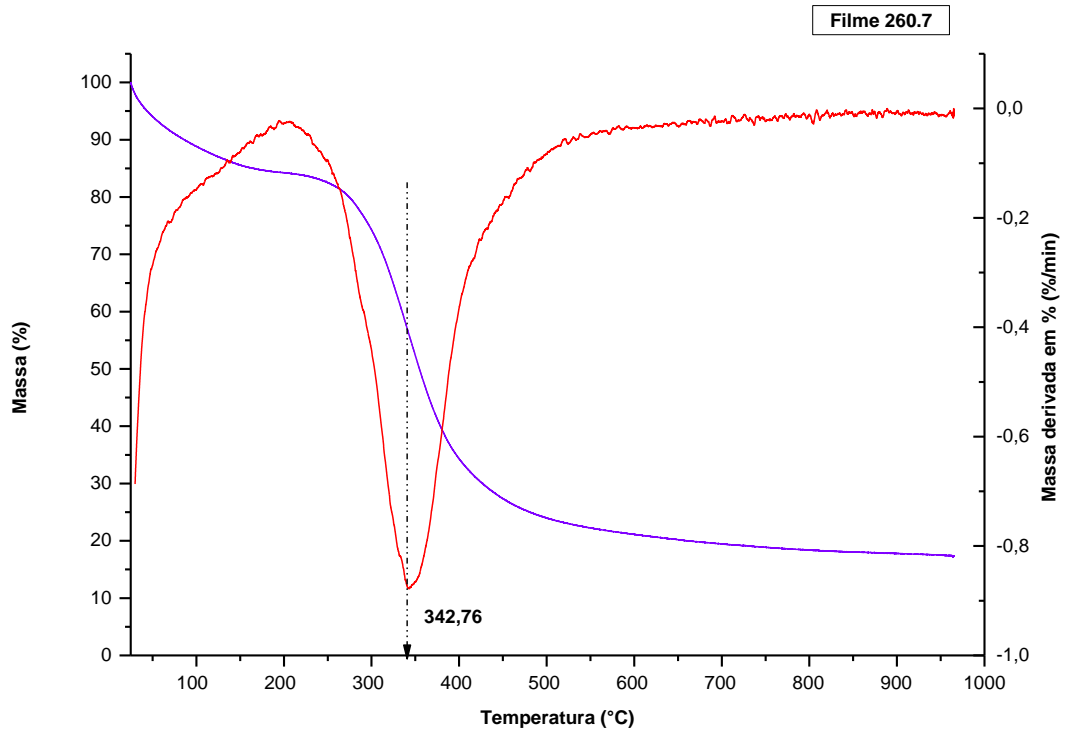
ANEXO E



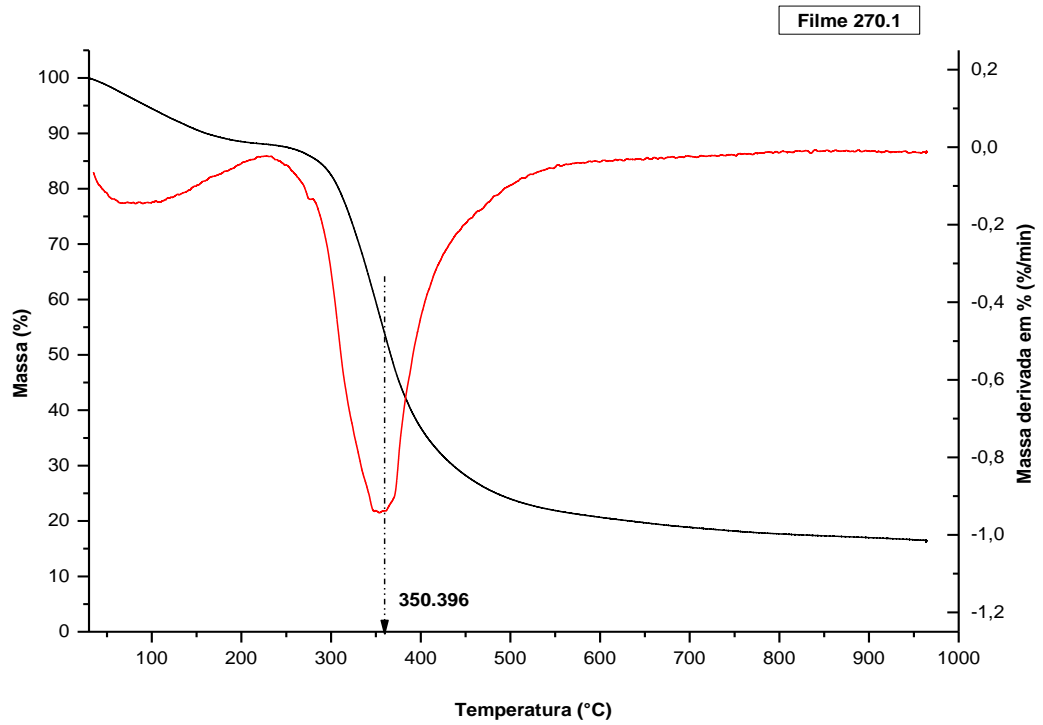
ANEXO F



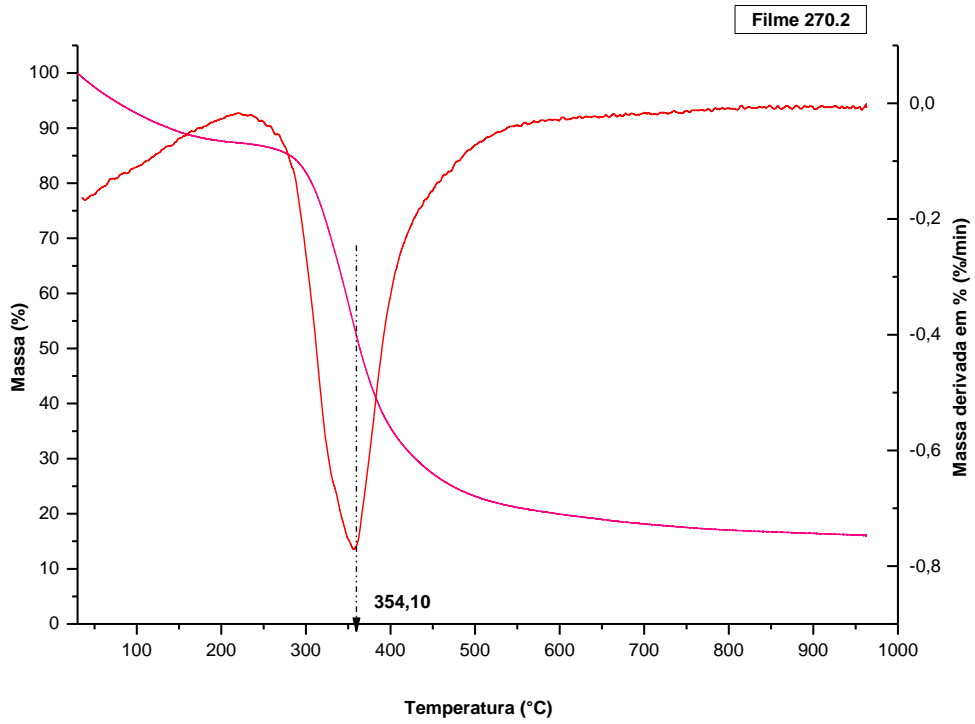
ANEXO G



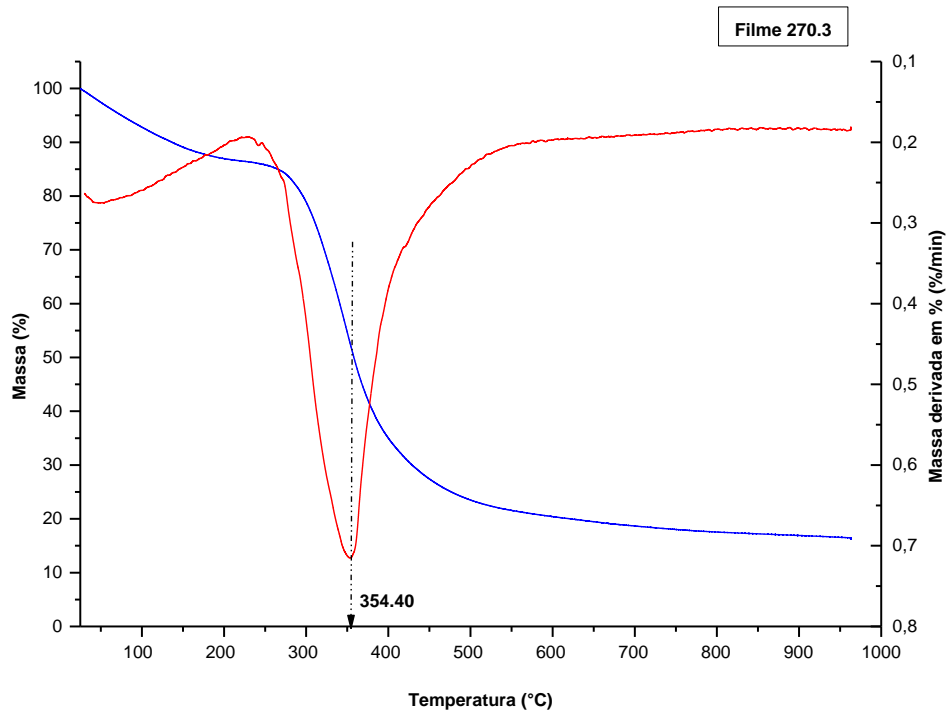
ANEXO H



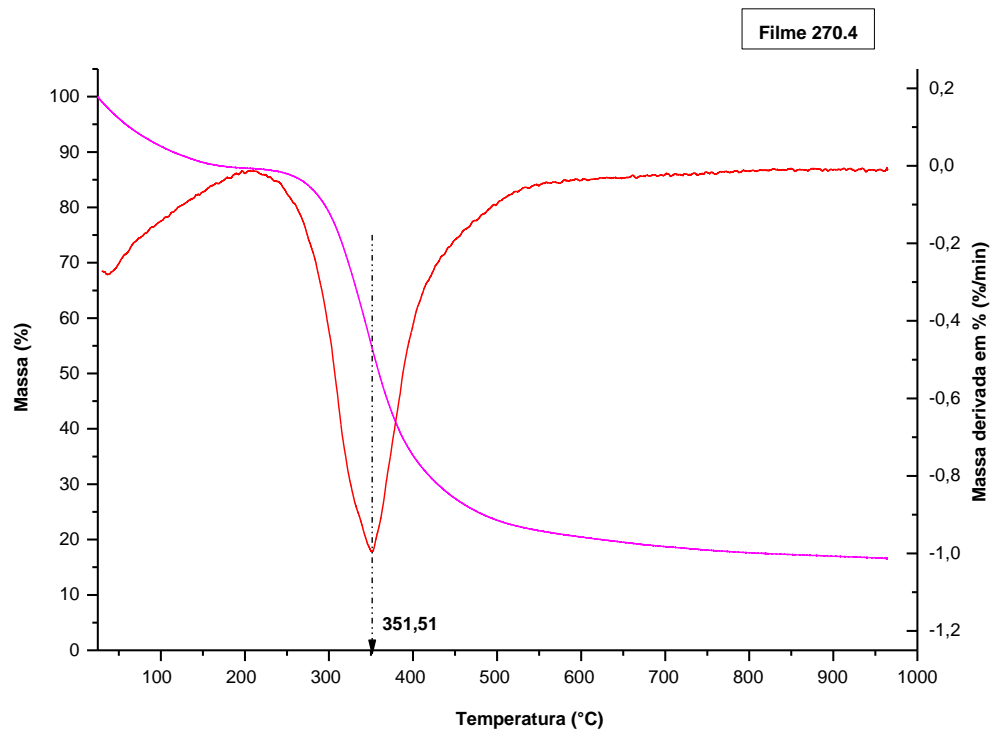
ANEXO I



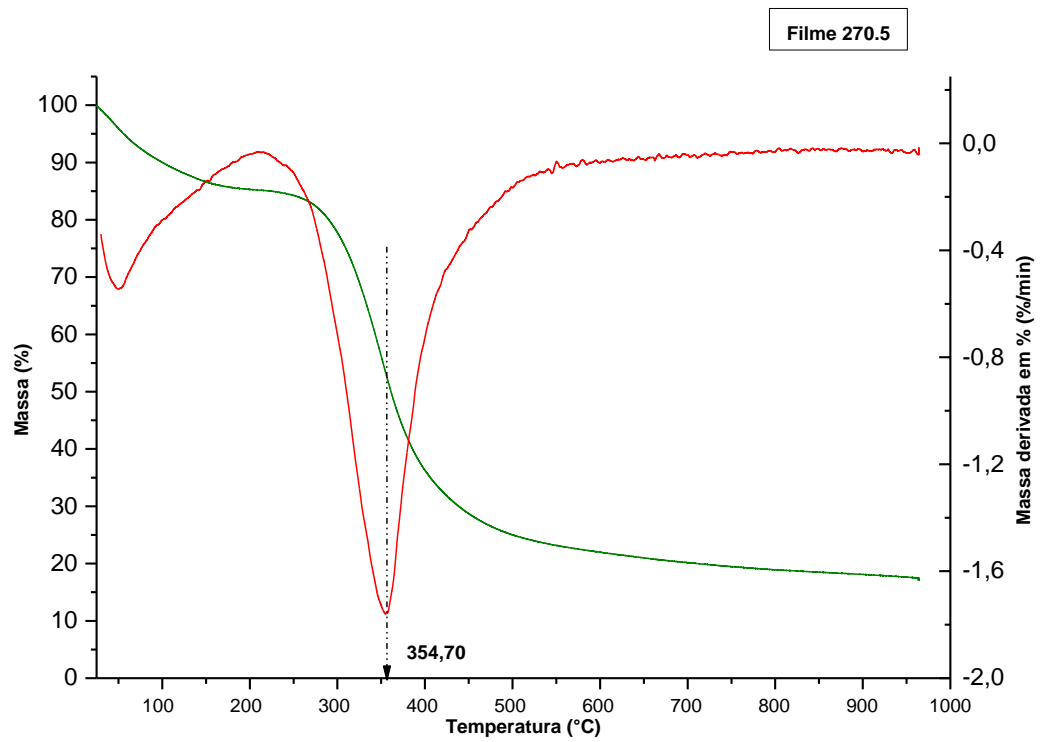
ANEXO J



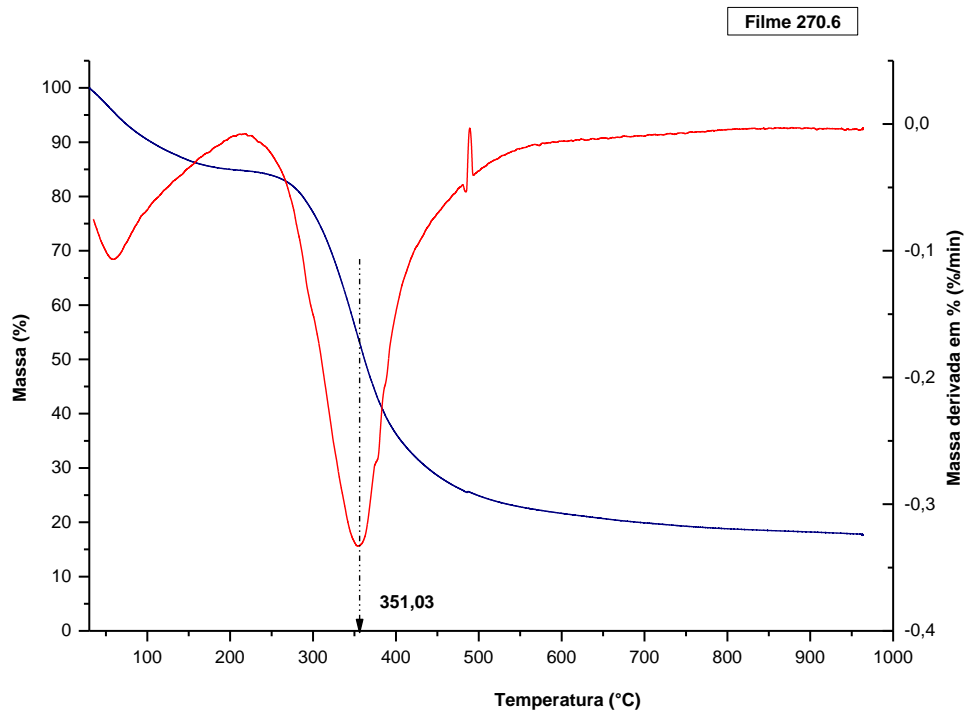
ANEXO K



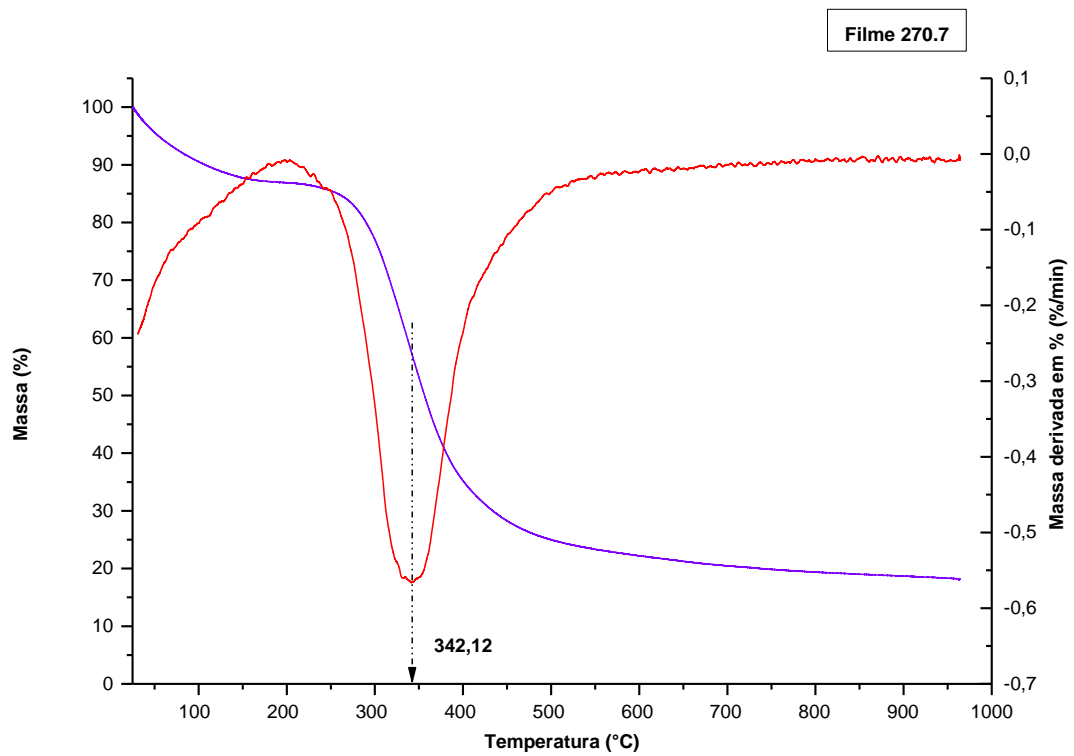
ANEXO L



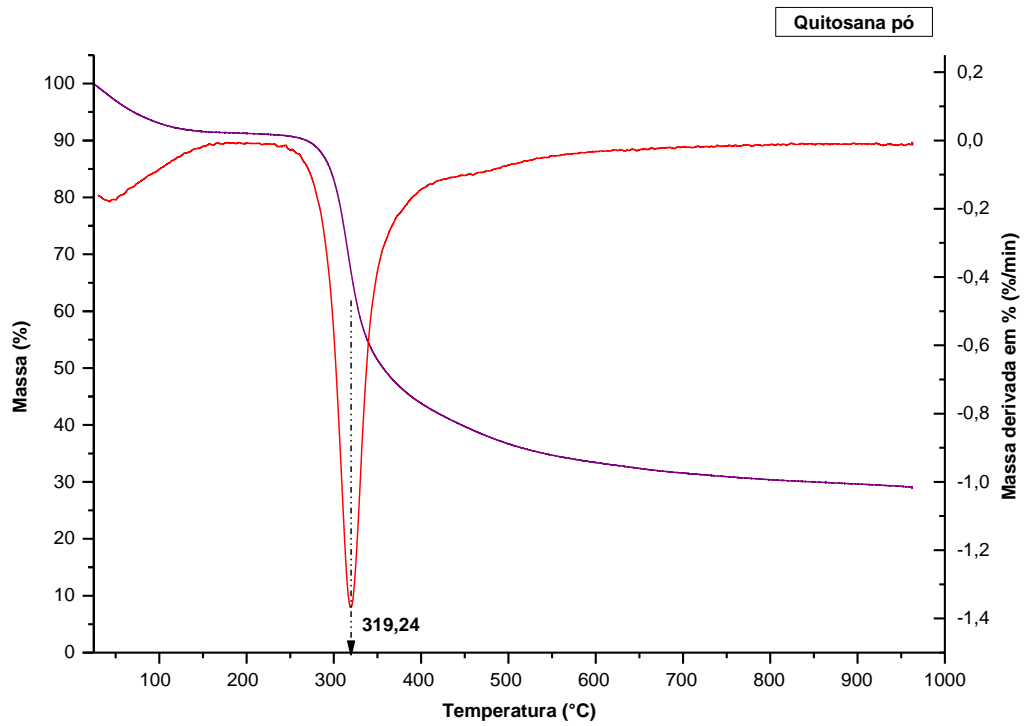
ANEXO M



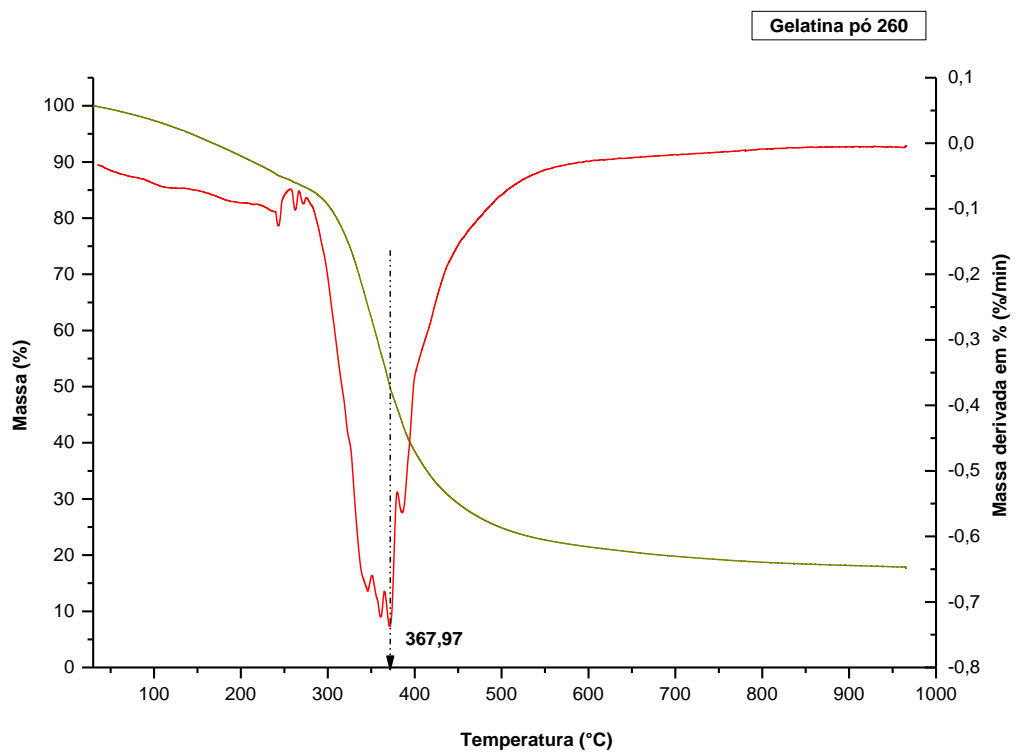
ANEXO N



ANEXO O



ANEXO P



ANEXO Q

