

UNIVERSIDADE FEDERAL DE ITAJUBÁ – UNIFEI
INSTITUTO DE FÍSICA E QUÍMICA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIA E ENGENHARIA
DE MATERIAIS

TERAPIA FOTODINÂMICA EM BIOMEMBRANAS DE
QUITOSANA CONTENDO OS CONJUGADOS
DENDRÍTICOS DE POLIGLICEROL-CURCUMINA E
POLIGLICEROL-BORO-CURCUMINA PARA
TRATAMENTO DE FERIDAS CRÔNICAS

ROSANA RIBEIRO RODRIGUES

ITAJUBÁ-MG

2025

UNIVERSIDADE FEDERAL DE ITAJUBÁ – UNIFEI
INSTITUTO DE FÍSICA E QUÍMICA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIA E ENGENHARIA
DE MATERIAIS

ROSANA RIBEIRO RODRIGUES

TERAPIA FOTODINÂMICA EM BIOMEMBRANAS DE
QUITOSANA CONTENDO OS CONJUGADOS
DENDRÍTICOS DE POLIGLICEROL-CURCUMINA E
POLIGLICEROL-BORO-CURCUMINA PARA
TRATAMENTO DE FERIDAS CRÔNICAS

Defesa de tese submetido ao Programa de Pós-graduação em Ciência e Engenharia de Materiais da UNIFEI - Universidade Federal de Itajubá, como requisito para a obtenção do título de Doutor em Materiais para Engenharia.

Área de Concentração: Não-Metais

Orientador: Profa. Dra. Maria Elena Leyva González

ITAJUBÁ-MG

2025

Dedico a Deus por nunca me desamparar.

Dedico este trabalho aos meus pai José Carlos (in memoriam) e a minha mãe Fatima, os quais amo muito.

Dedico ao meu irmão por tudo que me ajudou até hoje e aos meus filhos que são a minha força.

Dedico a todos que contribuíram para conclusão deste curso.

AGRADECIMENTOS

Agradeço primeiramente a Deus por me capacitar em chegar até aqui, me fortalecendo a cada dia para concluir mais essa nova etapa.

Agradeço á minha família, que incentivou e acreditou, estando sempre presente.

Agradeço aos meus filhos, Antonella e Benjamin, pela paciência e ausências.

Agradeço a minha orientadora Maria Elena Leyva González e ao professor Álvaro Antônio Alencar de Queiroz pela compreensão e sempre dispostos a ajudar, apoio e colaboração, e por me receber como aluna, a minha eterna gratidão!!

Agradeço ao LAT (laboratório de Alta tensão) e a todos presentes ali.

Agradeço aos meus colegas de doutorado, em especial Priscila e Gilza pelo apoio durante o curso, a Simone Gomes e ao técnico Waldir Caldeira pela ajuda com os ensaios de microscopia de fluorescência na USP, ao técnico Paulo Sergio Marques pelo suporte com os ensaios de microbiologia, e a todos que de forma direta e indireta nos deu suporte.

Agradeço à CAPES pelo auxílio financeiro.

RESUMO

A terapia fotodinâmica potencializa a ação antimicrobiana dos curativos diminuindo o tempo de tratamento das feridas. Portanto, o uso de curativos que utilizam a terapia fotodinâmica para o tratamento de feridas representa um grande benefício. A presente Tese de Doutorado tem como objetivo principal desenvolver biomembranas contendo antimicrobianos que potencializam sua ação através da terapia fotodinâmica. A biomembrana desenvolvida é constituída do biopolímero quitosana (Qui) e os agentes antimicrobianos curcumina (C) e o complexo curcumina boro (BC). Para aumentar a biodisponibilidade da curcumina na ferida foi preparado um conjugado com o dendrimero de poliglicerol (PGLD). Portanto, as biomembranas preparadas foram Qui-PGLDC e Qui-PGLDBC. Estas biomembranas foram caracterizadas por técnicas espectroscópicas, espectroscopia de infravermelho com transformada de Fourier (FTIR); térmicas, análise termogravimétrica (TGA); estruturais, difração de raios-X (DRX); morfológicas, microscopia eletrônica de varredura e, por microscopia de fluorescência. O FTIR mostrou a incorporação dos conjugados PGLDC e PGLDBC na matriz de quitosana. As biomembranas apresentam menor estabilidade térmica se comparada à quitosana. O difratograma da biomembrana mostra o padrão da raios X da matriz polimérica. O MEV dos filmes mostrou uma boa dispersão do conjugado na matriz polimérica. A microscopia de fluorescência mostrou que ambos os conjugados podem ser usados na terapia fotodinâmica. Também, por meio da espectroscopia UV-vis, foi realizado o estudo da cinética de liberação de ambos os conjugados em diferentes pH (2,0 e 7,4) a duas temperaturas 37°C e 40°C. Os dados cinéticos foram ajustados a ordem zero, primeira ordem, Korsmeyer-Peppas e Higuchi. De maneira geral o melhor ajuste encontrado foi ao modelo Korsmeyer-Peppas, permitindo obter informação da difusão. O sistema Qui-PGLDBC mostrou comportamento Fickiano a 40°C, em ambos pHs estudados. A constante de velocidade da difusão k_{KP} foi maior a 40°C. O estudo microbiológico revelou que ambos conjugados apresentam ação antimicrobiana contra a *S. aureus*, sendo esta atividade potencializada pela ação do Laser.

Palavras Chaves: quitosana, curcumina, dendrimero de poliglicerol, antimicrobianos, terapia fotodinâmica, cinética de liberação.

Abstract

Photodynamic therapy enhances the antimicrobial action of dressings, delaying the time required for wound healing. Therefore, dressings are used with photodynamic therapy for wound treatment with a great benefit. The main objective of this Doctoral Thesis is to develop biomembranes containing antimicrobials that enhance their action through photodynamic therapy. The developed biomembrane consists of the chitosan biopolymer (Qui) and the antimicrobial agent's curcumin (C) and the curcumin boron complex (BC). To increase the bioavailability of curcumin in the wound, a conjugate with the polyglycerol dendrimer (PGLD) was prepared. Therefore, the prepared biomembranes were Qui-PGLDC and Qui-PGLDBC. These biomembranes were characterized by spectroscopic techniques, Fourier transform infrared spectroscopy (FTIR); thermal, thermogravimetric analysis (TGA); structural, X-ray diffraction (XRD); morphological, scanning electron microscopy and fluorescence microscopy. FTIR showed the incorporation of the PGLDC and PGLDBC conjugates in the chitosan matrix. Biomembranes have lower thermal stability when compared to chitosan. The diffractogram of the biomembrane shows the X-ray pattern of the polymer matrix. SEM of the films showed a good dispersion of the conjugate in the polymer matrix. Fluorescent microscopy showed that both conjugates can be used in photodynamic therapy. UV-vis spectroscopy also was used to study the release kinetics of both conjugates were studied at different pH (2.0 and 7.4) at two temperatures 37°C and 40°C. Kinetic data were fitted to zero order, first order, Korsmeyer-Peppas and Higuchi. In general, the best fit found was to Korsmeyer-Peppas model, allowing to obtain information about diffusion process. The Qui-PGLDBC system showed Fickian behavior at 40°C, at both pHs. The highest diffusion rate constant k_{KP} was found at 40°C. The microbiological study revealed that both conjugates have antimicrobial action against *S. aureus*, this activity being enhanced by the action of the Laser.

Key Words: chitosan, curcumin, polyglycerol dendrimer, antimicrobials, photodynamic therapy, release kinetics.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 Principais locais para o aparecimento de lesões por pressão.	17
Figura 2 Representação da estrutura química da quitosana ((n) número de monômeros)	19
Figura 3 Representação da estrutura química do dendrímero G3.....	21
Figura 4 Estrutura química da Curcumina.....	23
Figura 5 Representação da Terapia Fotodinâmica.....	27
Figura 6 Perfis plasmáticos em diferentes sistemas de liberação	30
Figura 7 Ciclo de liberação dos fármacos em um sistema matricial inertes ou hidrofóbicos:.....	32
Figura 8 Alterações observadas nos sistemas matriciais hidrofílicos que intumescem e sofrem erosão.....	34
Figura 9 Demonstração da utilização do laser frente as amostras.	40
Figura 10 Representação do preparo para o estudo de liberação.....	42
Figura 11 TGA e DTGA comparativo PGLD, CC e Conjugado PGLDC.....	44
Figura 12 DTGA e TGA comparativo dos conjugados PGLDC e PGLDBC	46
Figura 13 TGA comparativo do dendrímero PGLD, da quitosana e dos filmes conjugados de QUI-PGLDC e QUI-PGLDBC.....	46
Figura 14 DTGA comparativo do dendrímero PGLD da quitosana e dos filmes conjugados de QUI-PGLDC e QUI-PGLDBC.....	47
Figura 15 Espectros FTIR de PGLD, CC e, conjugado PGLDC.....	49
Figura 16 Espectro FTIR do conjugado PGLDBC.....	51
Figura 17 Espectro FTIR comparativo dos filmes de QUI e Qui-PGLDC e Qui- PGLDBC	52
Figura 18 Espectro FTIR Normalizado comparando a banda de vibração hidroxila dos filmes de QUI e Qui-PGLDC e Qui-PGLDBC	54
Figura 19 DRX da curcumina e o filme QUI-PGLDC	55
Figura 20 Micrografias das superfícies dos filmes (a) Quitosana, (b) Qui-PGLD (c) QUI-PGLDC.....	57
Figura 21 Micrografia de Fluorescência 20x (foco objetivo) do filme QUI-PGLD....	58
Figura 22 Micrografia de Fluorescência 63x4 (objetivo x ampliação) do conjugado	

PGLDC	59
Figura 23 Micrografia de Fluorescência 63x4 (objetivo x ampliação) do conjugado	
PGLDBC	60
Figura 24 Estudo de liberação dos conjugados PGLDBC e PGLDC em pH=2,0 e	
pH=7,4 a 37°C	61
Figura 25 Estudo de liberação dos conjugados PGLDBC e PGLDC em pH=2,0 e	
pH=7,4 a 40°C	62
Figura 26 Estudo de liberação do conjugado PGLDBC em 37°C e 40°C a pH=2,0...	63
Figura 27 Estudo de liberação do conjugado PGLDC em 37°C e 40°C a pH=2,0	63
Figura 28 Estudo de liberação do conjugado PGLDBC em 37°C e 40°C a pH=7,4...	64
Figura 29 Estudo de liberação do conjugado PGLDC em 37°C e 40°C a pH= 7,4	64
Figura 30 Ajuste dos dados cinéticos à ordem zero	65
Figura 31 Ajuste dos dados cinéticos a primeira ordem.....	66
Figura 32 Ajuste dos dados cinéticos a Korsmeyer-Peppas	67
Figura 33 Ajuste dos dados cinéticos a Higuchi.....	68

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 Características da análise térmica, retirada das curvas TGA e DTGA da Figura 10, respectivamente.	44
Tabela 2 Atribuição das principais bandas de vibração observadas nos espectros FTIR da Figura 14.....	50
Tabela 3 Atribuição das principais bandas de vibração observadas no espectro FTIR da Figura 15.....	51
Tabela 4 Atribuição das principais bandas de vibração observadas no espectro FTIR da Figura 16.....	53
Tabela 5 Dados cinético do ajuste dos dados à ordem zero.....	66
Tabela 6 Dados cinético do ajuste dos dados a primeira ordem	66
Tabela 7 Dados cinético do ajuste dos dados a Korsmeyer-Peppas	67
Tabela 8 Dados cinético do ajuste dos dados a cinética de Higuchi.....	68
Tabela 9 Constante de velocidade Korsmeyer-Peppas	69
Tabela 10 dados dos halos inibitórios do complexo PGLDC.	71
Tabela 11 Halo inibitório sem laser.	72
Tabela 12 Halo inibitório com laser diferentes tempos	72

LISTA DE SIGLAS

C	Curcumina
QUI – PGLDC	Filme contendo quitosana, poliglicerol e curcumina
QUI	Quitosana
QUI- PGLDBC	Filme contendo quitosana, poliglicerol, boro e curcumina
PGLDB	material contendo poliglicerol e boro
PGLDC	material contendo poliglicerol e curcumina
PGLD	Poliglicerol
FTIR	espectroscopia de infravermelho com transformada de Fourier
TGA	Análise Termogravimétrica
DRX	difração de raios-X
MEV	microscopia eletrônica de varredura
MF	microscopia de fluorescência

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	12
2 OBJETIVO.....	15
2.1 Geral	15
2.2 Específicos	15
3 REFERENCIAL TEÓRICO	16
3.1 Lesão por pressão	16
3.2 Biomateriais para aplicações biomédicas	18
3.3 Biomembranas no tratamento de feridas	25
3.4 Terapia fotodinâmica	26
3.5 Sistemas de Liberação	28
3.5.1 Mecanismo de Liberação Controlada em Sistemas Matriciais Poliméricos.	31
4 METODOLOGIA.....	35
4.1 Materiais.....	35
4.2 Metodologia: Descrição e Fundamentos.....	36
4.2.1 Síntese do Conjugado de Dendrímero de Poliglicerol (PGLD) com complexo de Boro-Curcumina (PGLDBC) e Dendrímero de Poliglicerol com curcumina (PGLDC) .	36
4.2.2 Preparação da membrana de Quitosana com PGLDBC e PGLDC	36
4.2.3 Caracterização Físico-química	37
4.2.3.1 Caracterização por Termogravimetria (TG).....	37
4.2.3.2 Caracterização por Espectroscopia no Infravermelho com Transformada de Fourier (FTIR).....	37
4.2.3.3 Caracterização por Difração de Raios-X.....	38
4.2.3.4 Caracterização da Morfologia por Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV) e Microscopia de Fluorescência.....	38
4.2.4 Estudo da atividade antimicrobiana <i>in vitro</i> das Biomembranas	39
4.2.5 Estudo de liberação <i>in vitro</i>	41
4.2.5.1 Estudo da Liberação da Curcumina nas biomembranas.....	41
4.2.5.2 Curva de calibração para estudo da liberação “in vitro” das Biomembranas	41
4.2.5.3 Estudo da Liberação da Curcumina presentes nas biomembranas.....	41
5 DISCUSSÃO E RESULTADOS.....	43

5.1 Caracterização Físico-química	43
5.1.1 Análises Térmicas - Caracterização por Termogravimetria (TGA).....	43
5.1.2 Caracterização por Espectroscopia no Infravermelho com Transformada de Fourier (FTIR).....	48
5.1.3 Caracterização por Difração de Raios-X.....	54
5.1.4 Caracterização por microscopia eletrônica de varredura (MEV) Microscopia de Fluorescência (MF).....	56
5.2 Estudo de Liberação “in vitro”	60
5.3 Avaliação da atividade antimicrobiana <i>in vitro</i> da Curcumina e do PGLDBC e PGLDC	70
6 CONCLUSÃO.....	73
7 REFERÊNCIAS.....	75

1 INTRODUÇÃO

Segundo os dados apontados em 2018 pela Projeção da População do IBGE, a população idosa tende a crescer no Brasil nas próximas décadas. Em 2043, de acordo com a pesquisa, um quarto da população deverá ter mais de 60 anos, e 16,3% de jovens de até 14 anos. Para a demógrafa do IBGE, em 2047 a população ficará estável, assim contribuindo para o processo de envelhecimento populacional, onde a faixa etária dos mais velhos predomina em uma proporção maior comparada a faixa etária dos mais jovens da população [1].

Dessa forma, o desafio do Brasil para o século XXI é oferecer suporte de qualidade de vida para os idosos uma vez que prevalece em sua grande maioria uma população carente quanto ao nível socioeconômico e com prevalência de doenças crônicas e incapacitantes. Essas características exercem impacto direto nos serviços de saúde brasileiro, o que torna necessário o desenvolvimento de tecnologias e produtos que promovam a qualidade de vida dos idosos [2].

Uma projeção dos gastos ambulatorial e hospitalar do SUS entre 2010 e 2030, realizados pelo Instituto de Estudos de Saúde Suplementar (IESS). Os gastos ambulatoriais sofrerão redução de 44,2% com os mais jovens de até 14 anos, contraditória a parcela do gasto relativo aos idosos, na qual era de 31,2% em 2010, e em 2030 atingirá 42,8%, um crescimento de 36,8% no intervalo dos anos. Com relação às internações, caíram os gastos de 17,5% para 10,9% com crianças e adolescentes, porém com os idosos terão sua parcela do gasto aumentada de 28,5% para 41,9% [3]. Um agravante do processo de internação do idoso está na restrição de sua mobilidade, levando ao desenvolvimento de úlceras de pressão (UP) e, geralmente o óbito do paciente devido ao desenvolvimento de processos infecciosos graves [4].

À vista do exposto, as universidades e centros de pesquisa no Brasil ainda não oferecem resposta adequada quanto ao desenvolvimento de produtos desenvolvidos especialmente para o idoso com mobilidade restringida; em específico o oferecimento de materiais e tecnologias acessíveis para a população de baixa renda. Diante disto, justifica-se a produção sustentável de materiais para o tratamento de UP em idosos com mobilidade restringida, particularmente o desenvolvimento de curativos antimicrobianos para o tratamento de feridas [5], [6], [7].

As feridas são caracterizadas por lesões, ou seja, interrupção da continuidade de um tecido corpóreo, em maior ou em menor extensão, causada por traumas físico, químico ou mecânico. As feridas crônicas em idosos podem ser a manifestação de doenças como diabetes mellitus e hipertensão arterial sistêmica, visto que complicações vasculares neste grupo de

patologias, são as mais frequentes, comprometendo o processo natural de cicatrização. A infecção bacteriana é uma das maiores dificuldades encontradas no tratamento dessas feridas, podendo conduzir a muitas complicações [5], [6], [7].

A quitosana (poli-1,4-D-glucosamina) tem sido uns dos biopolímeros naturais empregados para a produção de curativos no tratamento de lesões de pele, pelo seu potencial na cicatrização de feridas, apresentando atividade antimicrobiana, além das propriedades como biodegradabilidade e biocompatibilidade ao tecido humano, biologicamente renovável, não tóxico, propriedades benéficas, na aplicação em engenharia de tecidos [8], [9], [10]. A quitosana é um polissacarídeo composto por unidades de glucosamina e N-acetilglucosamina ligadas por ligações β (1-4) glicosídicas derivadas da quitina por desacetilação alcalina [11].

A incorporação de agentes antibacterianos ao biopolímero de quitosana (QUI) visando o desenvolvimento de curativos com amplo espectro de ação tem sido uma alternativa no tratamento de feridas infectadas [6]. Como anteriormente descrito, um curativo exerce a função de cobrir e proteger a ferida de microrganismos e infecções indesejáveis, com alto grau de intumescimento e, portanto, capaz de remover o exsudato e favorecer o processo de cicatrização através da inclusão de ativos antimicrobianos, promovendo liberação sustentada por período de tempo prolongado e liberando o ativo gradualmente. Finalmente, um curativo eficaz é aquele que permite a retirada do mesmo sem causar danos na ferida [5], [7].

A vantagem de se utilizar a quitosana como curativo é a potencialização pela incorporação de produtos bioativos que quando liberados de maneira controlada diretamente na ferida promovem a rápida cicatrização [10]. Entre esses produtos, encontram-se a curcumina, pigmento amarelo obtido a partir dos rizomas de *Curcuma longa* Linn (Zingiberaceae). A curcumina apresenta propriedades antimicrobianas e, portanto tem sido estudada como curativo de lesões mostrando elevada eficiência no tratamento da ferida [12], [13].

Os corantes e pigmentos são caracterizados pela sua habilidade de absorver luz visível. Sendo a curcumina um pigmento, é uma substância passível de ser fotoativada e, portanto, de ser usada enquanto fotossensibilizador em terapia fotodinâmica (TFD). A técnica TFD é definida como uma reação fotoquímica utilizada para causar destruição seletiva de um tecido. Esta técnica parte do princípio de que a interação de luz de comprimento de onda específico com um composto não-tóxico (fotossensibilizador) e oxigênio, resulta em espécies reativas capazes de induzir a inviabilização de células [14], [15]. Um fator de importância para a TFD é a fonte de luz, que atuará sobre o agente fotossensibilizador, iniciando o processo de excitação de elétrons. O advento do laser representa um avanço na técnica, por apresentar um baixo componente térmico e uma pequena largura de banda espectral, configurando-se em uma luz

monocromática além de ser possível regular a sua potência [16].

A TFD é um processo de baixo custo, com efeito antimicrobiano de amplo espectro, seguro para o tecido do hospedeiro e pode chegar a locais inacessíveis, além da vantagem de morte microbiana rápida, não sendo necessária a manutenção do fotossensibilizador em altas concentrações na área infectada por tempo prolongado [16].

A tendência de pesquisas futuras na TFD insere-se no desenvolvimento de novos sensibilizadores, como maior seletividade frente às células e ou tecidos alvo. Neste contexto, a curcumina tem um potencial como fotossensibilizador, pois apresenta um pico de absorção bastante amplo na faixa de 300 a 500 nm e não mostra efeito tóxico, que o torna um candidato adequado como um agente fotossensibilizador[16].

Finalmente, destacamos que a presente tese tem como proposta de pesquisa o desenvolvimento de um curativo com uso de terapia TFD, baseado na incorporação dos conjugados dendrímero de poliglicerol/boro-curcumina (PGLDBC) e dendrímero de poliglicerol/curcumina (PGLDC) na matriz do biopolímero de quitosana (QUI), formando assim as misturas poliméricas QUI-PGLDBC e QUI-PGLDC, chamadas de biomembranas. As biomembranas QUI-PGLDBC e QUI-PGLDC, apresentarão a característica que poderão torná-las altamente eficientes no tratamento de feridas devido à aplicação da terapia FTD. Ao combinar as propriedades da quitosana com as propriedades antimicrobianas dos princípios ativos, curcumina e curcumina:bora, que são capazes de induzir fotossensibilidade localizada e seletiva na área cutânea a ser tratada, sugere-se que a cicatrização ocorra mais rapidamente e com menos efeitos colaterais.

2 OBJETIVO

2.1 Geral

Desenvolver uma biomembrana que use a terapia fotodinâmica (TFD), para tratamento de feridas crônicas especialmente na população idosa. O curativo a ser desenvolvido é baseado no biopolímero quitosana (QUI) contendo os conjugados dendrímero de poliglicerol/boro-curcumina (PGLDBC) e dendrímero de poliglicerol/curcumina (PGLDC), como agente antimicrobiano e fotossensibilizador.

2.2 Específicos

- Sintetizar o conjugado dendrímero de poliglicerol/curcumina (PGLDC).
- Desenvolver as biomembranas QUI-PGLDBC e QUI-PGLDC
- Caracterizar materiais livres, os conjugados e biomembranas QUI-PGLDBC e QUI-PGLDC por análise infravermelho por transformada de Fourier (FTIR); análise termogravimétrica – TGA; difração de raios-X (DRX) e microscopia eletrônica de varredura (MEV) e microscopia de fluorescência (MF).
- Realizar o estudo da cinética de liberação controlada “in vitro” das biomembranas QUI-PGLDBC e QUI-PGLDC
- Realizar o estudo microbiológico com uso da terapia fotodinâmica nos conjugados PGLDBC e PGLDC.

3 REFERENCIAL TEÓRICO

3.1 Lesão por pressão

Um órgão essencial para o corpo humano é a pele, que protege os demais órgãos de danos externos como agentes do meio ambiente (bactérias ou vírus) e é responsável por funções fundamentais como a regulação térmica e funções sensoriais. Porém para manter intato é algo crítico, pois ocorrência de danos neste órgão podem comprometer infecções graves, impossibilita tratamento em andamento, inclusive complicações que correm risco de vida. O desempenho de cicatrização de lesões tem chamado a atenção, especialmente no caso de feridas que tenham dificuldade devido a diabetes ou infecções. As fases de cicatrização são basicamente: coagulação, inflamação, migração, proliferação e regeneração de tecidos [17].

Visto que as feridas apresentam um processo de desenvolvimento gradual, onde o desempenho de cicatrização é interrompido, em razão do baixo fluxo sanguíneo, pressão local contínua, diabetes ou outros fatores que afetam a cicatrização, esta tem se tornando um grave problema de saúde. O elevado número de pessoas com úlceras contribui para onerar o gasto público, além de interferir na qualidade de vida da população. Milhões de pessoas apresentam feridas nos Estados Unidos, e bilhões por ano são utilizados para fins de tratamento na pele com propósito de obter a cura da ferida. Apesar disso, muitos tratamentos são incapazes e de alto custo, além de causar efeitos colaterais, sendo de extrema importância descobertas de novos curativos [17].

Lesões por pressão, anteriormente conhecidas como escaras, decúbitos, úlceras de pressão, terminologia discutida e atualizada, afim de ressaltar que as lesões podem estar presentes mesmo quando a pele está intacta[2]. Tem como definição uma lesão localizada na pele e/ou no tecido subjacente, normalmente sobre relevo a estrutura óssea, ocasionada da pressão prolongada ou pressão em combinação com cisalhamento e fricção, observada continuamente em paciente imóvel hospitalizado conforme demonstrado na Figura 1. Situações em que as lesões apresentam infecção, complicações comuns associadas ao aumento do risco de amputação do local [19], [20].



Figura 1 Principais locais para o aparecimento de lesões por pressão.

Fonte: [21]

Dispositivos médicos são materiais essenciais para cuidados dos pacientes em ambientes hospitalares, alguns como: cateteres, máscaras de oxigênio, colares cervicais, tubos / laços de traqueostomia, meias de compressão, são utilizados nos demais ambiente hospitalar. Entretanto, as lesões por pressão ocasionadas por estes dispositivos são um fenômeno clínico que merece a atenção dos profissionais de saúde. Para agregar a conscientização das lesões causadas por dispositivos, o *National Pressure Ulcer Advisory Panel* (NPUAP) tem sido fundamental, expôs em 2016, uma lesão por pressão relacionada a um determinado dispositivo como decorrente do uso de dispositivos projetados e aplicados para fins diagnósticos ou terapêuticos, na qual podem ocorrer na mucosa ou na pele [22].

O processo de cicatrização das lesões envolve uma cadeia de respostas fisiológicas complexas e dinâmicas, a qual podem ser auxiliadas por várias citocinas, fatores de crescimento (GFs), hormônios e outros tipos de células. Diante disto, continua sendo um grande desafio clínico a cicatrização das lesões, havendo a necessidade de curativos de biomateriais. Na qual vários estudos demonstram resultados como uma barreira para proteger a pele lesionada, além de manter um ambiente úmido por hidrogéis; afim de promover o reparo e o processo de regeneração da lesão[23].

As úlceras crônicas costumam apresentar inflamação crônica, muitas vezes exacerbada pela contaminação microbiana. Diante disto, a terapia fotodinâmica (TFD) tende a melhorar o processo de cicatrização, levando à alteração dos processos fisiológicos nas feridas crônicas, atuando em diferentes estágios do processo de cicatrização e acelera a cicatrização geral do tecido[17]. Visto que as terapias clássicas para áreas infectadas são de alto custo e ineficazes e,

considerando a crescente resistência aos antibióticos, a TFD antimicrobiana vem sendo uma alternativa, particularmente para infecções superficiais em que o contato com a luz é facilitado [5].

Incontáveis buscas começaram a analisar a TFD contra microrganismos (MOs), e sugeriram essa terapia em casos de resistência microbiana ou em associação com os ativos resistentes ao microrganismo. A inativação fotodinâmica de microrganismos também é conhecida como Quimioterapia Antimicrobiana Fotodinâmica (PACT) ou Inativação Fotodinâmica (PDI). Uma vez que o espécies reativas de oxigênio (ROS) pode reagir com alvos não específicos, o PDI traz várias vantagens sobre os antibióticos e antifúngicos convencionais, por exemplo, poucos efeitos colaterais indesejados e pouca probabilidade de promover o desenvolvimento de resistência por microrganismos [24].

3.2 Biomateriais para aplicações biomédicas

A ampliação ocorrida nos últimos anos em relação às aplicações farmacêuticas e biomédicas apresentou um aumento na modificação em muitas doenças com relação aos biomateriais. Entre os biomateriais desenvolvidos, os hidrogéis têm sido considerados promissores para aplicações biomédicas e têm chamado atenção nos últimos anos. Os hidrogéis apresentam boa biocompatibilidade, propriedades de absorção e retenção de água pela combinação de um fotossensibilizador (PS) e outros polipeptídeos para aplicações terapêuticas [23].

Os hidrogéis são reticulados quimicamente entre redes ou cadeias poliméricas por meio de irradiação de energia, resultante da irradiação de laser prolongada. O hidrogel é formulado com base na natureza funcional dos biomateriais para o processo de cicatrização de feridas. Portanto, maior atenção tem sido dada a uma combinação de TFD com materiais de hidrogel como uma opção promissora para a cicatrização de feridas para superar suas limitações [23].

Um hidrogel polimérico que tem se destacado para compósitos com finalidade clínica é a quitosana (Figura 2). Um polissacarídeo catiônico com protonação do grupo amino(NH^{3+}) de ocorrência natural. Devido demonstrar grupos amino livres a quitosana tem a capacidade de reagir com várias moléculas, marcando o biopolímero com maior disponibilidade. É produzida através da desacetilação da quitina, polímero natural que se destaca para utilização na reparação da pele. Empregada como agente gelificante, matrizes adesivas, curativos, hidrogéis, membranas e adesivos em sistemas de entrega transdérmica. Alguns estudos relataram a aplicação da quitosana e seus derivados, com bons resultados na cicatrização de feridas, e

caracterizaram a atividade antimicrobiana, apresentando bons efeitos na inibição do crescimento de bactérias, fungos e leveduras [25], [26].

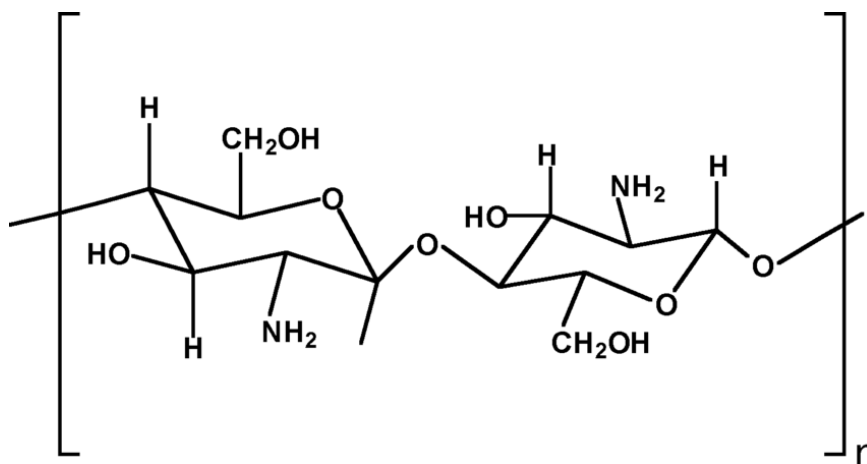


Figura 2 Representação da estrutura química da quitosana ((n) número de monômeros)

Uma nanopartícula de curcumina desenvolvida com compostos tripoliméricos tem por finalidade serem aplicados como um dispositivo de entrega para a cicatrização de feridas. As presentes nanopartículas compostas foram preparadas com três polímeros biocompatíveis de quitosana, ácido poli- δ -glutâmico e plurônico através de gelificação iônica simples. Plurônico foi usado para aumentar a solubilidade da curcumina em nanopartículas de quitosana / ácido poli δ -glutâmico. Esta membrana tem por finalidade diminuir a inflamação e infecção bacteriana durante a regeneração, demonstrando através de ensaio *in vitro* a liberação de curcumina em um modelo de tecido de pele simulado e promovendo a regeneração do neocolágeno e reconstrução de tecidos[8].

Apesar da clorexidina (CLX) apresentar atividade antimicrobiana sua aplicação no tratamento de lesão é limitada devido à sua citotoxicidade para fibroblastos humanos. Diante da necessidade de um sistema de liberação, capaz de liberar CLX de forma localizada e prolongada, a fim de garantir atividade antimicrobiana com citotóxica reduzida, o presente trabalho preparou e caracterizou filmes compostos de quitosana / montmorilonita contendo CLX, capazes de oferecer uma liberação prolongada de CLX. Foram investigadas as atividades antimicrobianas e a citotoxicidade dos filmes. Todos os filmes preparados mostraram boas atividades antimicrobianas e antibiofilme. Não alegou citotoxicidade no filme contendo MONT-CLX na concentração de 1% de CLX. Esses resultados confirmam o uso potencial de filmes de quitosana contendo MONT-CLX como um potencial material de curativo para prevenir a colonização microbiana em feridas [25].

Foi possível acompanhar inovações que geraram impacto na síntese de polímeros e

avanços no design de produtos químicos biodegradáveis no século 20. Eventos que possibilitam a síntese de macromoléculas com múltiplas composições e novas arquiteturas cuja as propriedades físico-químicas e biológicas são únicas. Os polímeros sintéticos podem ser divididos em quatro categorias arquitetônicas principais: estruturas lineares, reticuladas, ramificadas e dendríticas. Os três primeiros foram examinados grandemente anos anteriores. O quarto compreende os dendrímeros inspirados na natureza, desenvolvidos atualmente, são macromoléculas altamente ramificadas e nanoesféricas, sendo um exemplo proeminente de revolução do nano-polímero [27].

O conhecimento dos dendrímeros obteve um crescimento brusco dentro da química moderna devido apresentar uma das áreas mais fascinantes. Sua síntese surgiu através de Vögtle e colaboradores em 1978, entretanto teve seguimento no início dos anos 1980 por Tomalia et al. em que os dendrímeros são estruturas diferentes das existentes de polímeros lineares típicos, onde sua forma é precisa e controlada, conferindo-lhes pesos moleculares ajustáveis e previsíveis, biodegradabilidade e biocompatibilidade. Somente anos depois no início da década de 1990 o potencial generalizado dessas estruturas ramificadas começou a ser apreciado, atendendo muitas possibilidades, e exploração em uma variedade de aplicações médicas [27], [28].

Os dendrímeros são um grupo de macromoléculas com características estruturais altamente ramificadas de grande regularidade (Figura 3), uma forma compacta, um grande número de grupos terminais (reativos) e espaço entre os ramos para a absorção de moléculas hospedeiras. Sua terminologia vinda do grego ('*dendron*', que significa árvore ou ramo, e '*meros*', que significa parte), apresentam nobre número de grupos terminais, que muitas vezes são reativos, caracterizados por forma compacta e a possibilidade de absorver moléculas hóspedes entre os ramos. Por apresentar estrutura única, o dendrímero tem uma ampla aplicação de novos materiais funcionais [28], [29].

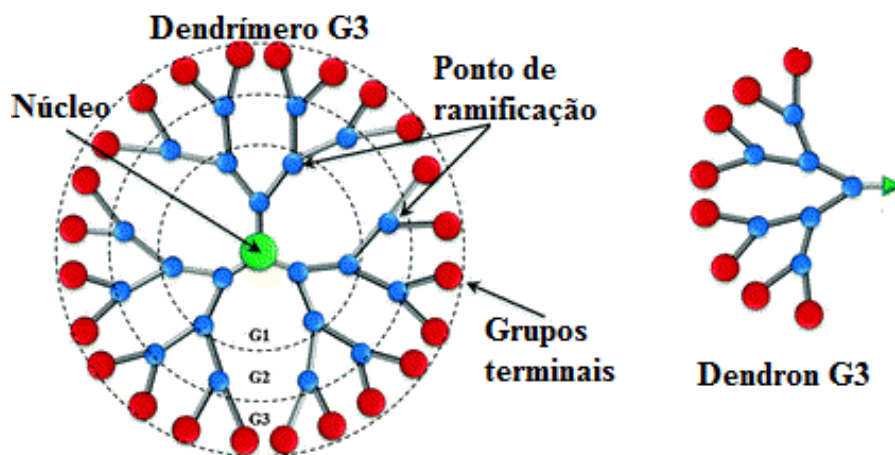


Figura 3 Representação da estrutura química do dendrímero G3.

O dendrímero (Figura 3) obtém uma molécula altamente ramificada, onde contém três áreas na qual uma química fascinante pode ocorrer. A primeira área, o núcleo encapsulado, pode abrigar espécies químicas que apresentam propriedades diferenciadas devido ao microambiente especial criado em torno delas pela ramificação dendrítica. A segunda área, é o santuário sob medida criado dentro dos vazios dos ramos flexíveis. Finalmente, a terceira área de um dendrímero, sua superfície multivalente, pode acomodar um grande número de funcionalidades que interagem com o volume, definindo assim as propriedades macroscópicas do dendrímero [28].

Os dendrímeros são os principais alvos para estudo na área da biomedicina na qual demonstra ser de grande utilidade tanto no diagnóstico quanto na terapia, devido à sua capacidade de melhorar a solubilidade, absorção, biodisponibilidade e distribuição direcionada. Uma das características na qual limita é a citotoxicidade molecular especialmente para dendrímeros catiônicos e de alta geração, entretanto estudos antineoplásicos de dendrímeros foram amplamente desenvolvidos, e vários tipos mostraram uma melhoria em comparação com a molécula do fármaco sozinho. Vários fármacos como: ibuprofeno, indometacina, piroxicam, cetoprofeno se encaixam em complexos dendrímeros na terapia anti-inflamatória[30,31].

Complexos com dendrímeros e antibióticos como fluoroquinolonas, macrolídeos, beta-lactaminas e aminoglicosídeos diante do contexto de resistência bacteriana a antibióticos as cepas revelam resultados favoráveis. Estudos têm sido realizados com antivirais como maraviroc, zidovudina, oseltamivir para desenvolver conjugados de dendrímero em terapias virais, além da terapia cardiovascular utilizados em imagens para diagnósticos, os dendrímeros reduzem a dosagem necessária para a obtenção das imagens, melhorando assim a eficiência de radioisótopos. Os resultados obtidos na maioria dos estudos incentivam o seguimento de novos biomateriais[30,31].

A bactéria *Pseudomonas aeruginosa* multirresistente a medicamentos aumentou gradativamente. As infecções por essa bactéria servem como reservatório bacteriano e estão associadas a morbidade e custos significativos no que se refere ao tratamento. Já analisados anteriormente o material de dendrímeros policatiônicos antimicrobianos são capazes de inibir o microrganismo. A junção do material com uma classe de adesivos biológicos feitas de células progenitoras da pele, pode impactar positivamente os processos de cicatrização de feridas, visto que a neovascularização é fundamental na cicatrização de lesões profundas. Os resultados obtidos no estudo demonstram que os dendrímeros podem ter efeitos angiogênicos. Além disso, observou que uma concentração de dendrímero variando entre 50 e 100 $\mu\text{g} / \text{mL}$ em combinação com as bandagens biológicas pode suprimir o crescimento bacteriano sem alterar a viabilidade celular em até 5 dias [32].

Outro ativo que tem sido utilizado em aplicações tópicas e tem destacado é a curcumina, em vários estudos têm demonstrado avanço significativamente na cicatrização de lesões, preservando os tecidos contra danos oxidativos e promovendo proteção contra doenças degenerativas através de propriedades anti-inflamatórias e antioxidantes (eliminação de radicais livres) e induzindo enzimas de desintoxicação[8].

A curcumina é o principal componente ativo da cúrcuma, utilizado na Índia como uma especiaria, de coloração dourada ou amarelo-alaranjado, além de outras utilidades em indústria e tratamentos médicos. Surgiu há quase dois séculos e sua estrutura química foi determinada em 1910. Inúmeras atividades terapêuticas foram direcionadas a curcumina presente no açafrão, dentre elas destaca se ações na pele, sistemas pulmonar e gastrointestinal, dores, feridas, entorses e distúrbios hepáticos. Múltiplos estudos demostram que a curcumina tem propriedades anti-inflamatórias, antimicrobianas, anticancerígenas, antioxidantes e cicatrizantes na qual sugerem sua aplicação farmacológica [8], [33].

A curcumina é conhecida quimicamente como diferuloilmetano ($\text{C}_{21}\text{H}_{20}\text{O}_6$), com ponto de fusão de 183 °C e massa molecular de 368,37 g/mol. Apresenta em sua estrutura Figura 4 dois anéis arila com *grupos fenólicos orto* -metoxi que são simetricamente ligados a uma fração β -dicetona. Expondo um tautomerismo ceto-enólico que pode variar de acordo com o pH, em pH ácido ou neutro predomina a forma ceto, ao passo que em meio pH alcalino predomina a forma enol. Também havendo mudança de tonalidade em diferentes níveis de pH, na faixa de 2,5–7,0 obtém um amarelo brilhante e acima de pH 7 mudando para vermelho escuro[35].

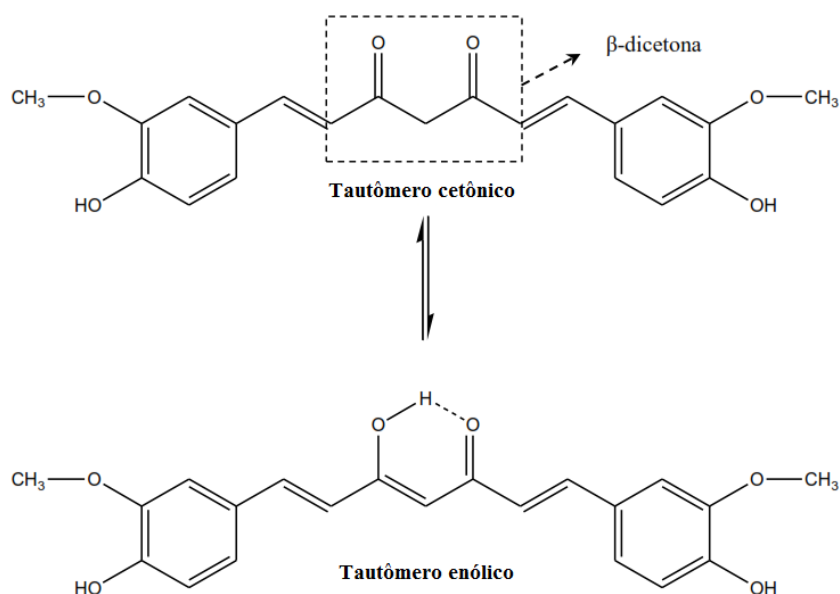


Figura 4 Estrutura química da Curcumina.

O efeito anti-inflamatório da curcumina está ligado à sua habilidade de inibir a proteína NFκB (fator nuclear κB) de se ligar ao DNA. Assim como também a curcumina exerce efeitos anti-inflamatórios ao se ligar às proteínas COX-2 (prostaglandina-endoperóxido sintase 2), o que leva à redução da expressão de COX-2, prostaglandina e tromboxanosíntese. Posteriormente, a curcumina inibe a atividade da 5-LOX (Araquidonato 5-lipoxigenase) e a síntese de leucotrienos. A expressão diminuída desses compostos atribui aos efeitos anti-inflamatórios da curcumina[36].

Pressupõe que o efeito antibacteriano da curcumina esteja associado à sua capacidade de inibir a formação da proteína FtsZ do anel Z, no local da divisão das células bacterianas, o que interrompe tal divisão das células bacterianas, pois a FtsZ é uma proteína citoesquelética que desempenha um papel fundamental na divisão celular procariótica e está presente na maioria das espécies bacterianas[37]. A curcumina demonstrou ter uma potente atividade antibacteriana contra uma série de bactérias patogênicas, como por exemplo: *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus epidermidis* e *Enterococcus* [38]. A curcumina também mostrou efeito antiviral em vários vírus, como HIV, influenza, HSV-1, vírus coxsackie e HBV[39].

Entretanto a curcumina apresenta ação bacteriana dupla, sua ação na ausência de luz, como já descrito no parágrafo anterior, na qual difere do modo de ação na presença de luz, sendo ela um potencial agente fotossensibilizador na terapia fotodinâmica [40]. Pois a curcumina absorve a luz azul que tem alta energia, provocando a produção de oxigênio singlete, que pode se difundir através das células de um microrganismo e danificar diferentes estruturas [41],[40].

A curcumina tem seu pico de absorção mais alto na faixa de luz azul (455-460 nm) e

pode ser usado como um fotossensibilizador na faixa de 400-500 nm [42]. A TFD é baseada no uso de luz de um comprimento de onda específico e fotossensibilizadores não tóxicos que causam um efeito fotodinâmico para tratar várias doenças de pele. A especificidade dupla da curcumina na TFD depende do acúmulo do mesmo no tecido doente e também da distribuição de luz localizada [43].

Apesar da técnica ter suas limitações ao acesso a luz na região lesionada como por exemplo infecções sistêmicas, ainda assim torna eficaz em regiões de fácil acesso a luz. A curcumina apresenta absorção de luz azul com capacidade de penetração nos tecidos que variam de 0,3 a 2mm de profundidade. Diante disso, é compreensível que ela confronte o biofilme resistente a medicamentos, em virtude de que a espessura do biofilme varia de 5 a 88 μm , através dos quais até mesmo a luz azul consegue penetrar facilmente. Através da bibliografia, é possível observar que na maior parte dos estudos realizados, a curcumina foi usada na forma de solução em DMSO ou etanol para melhor solubilização [40].

Amplios estudos realizados nos últimos anos sobre a importante função medicinal da curcumina, demonstram que embora apresente ampla propriedades farmacológicas, sua aplicação é muito limitada devido à sua natureza hidrofóbica, sendo insolúveis em soluções aquosas especificamente por via oral, onde sua eficácia é prejudicada pela baixa biodisponibilidade devido ser mal absorvida pelo trato gastrointestinal, consequentemente seu metabolismo e excreção torna-se mais rápido, levando a seus níveis farmacológicos insignificantes. Porém, a curcumina tópica pode ser formulada para ser melhor absorvido pela pele, especialmente quando trata-se na barreira da pele que apresenta lesão ou doença [44], [34].

O complexo boro:curcumina, com razão estequiométrica 1:2, é bem conhecido desde início do XX. Sendo amplamente reportado na literatura para identificar traças de boro, usando a espectrofotometria[45]. O interesse dele em biomedicina cresceu nos últimos anos, devido a suas propriedades biológicas, tais como antifúngico, bactericida e anticancerígeno[46]. Recentemente, foi comprovado que o complexo boro:curcumina, também conhecido como rosocianina, atua na inativação fotodinâmica de vírus. Foi demonstrada sua ação eficaz contra as formas virais HIV-1 e HIV-2, podendo ser eficaz contra o COVID-19[47].

3.3 Biomembranas no tratamento de feridas

As feridas na pele têm agregado uma preocupação na saúde pública com muita regularidade, pois requer altos custos no tratamento e cuidados intensivos. Diante disso, muitos estudos estão sendo desenvolvidos para uma melhoria de tratamento[48].

PEGORIN, G.S. et al (2020) produziu uma nova biomembrana contendo látex de borracha natural (NRL) de *Hancornia speciosa* Gomes na qual possui uma atividade anti-inflamatória, propriedades cicatrizantes e antifúngica. O material demonstrou ser um biomaterial seguro e biocompatível com potencial cicatrizante, tornando-se uma alternativa eficaz e de baixo custo para o tratamento de feridas. Foi caracterizada por infravermelho com transformada de Fourier (FTIR), teste de resistência mecânica, para investigar suas propriedades biológicas utilizou o ensaio de citotoxicidade e atividade de cicatrização in vivo.

Os resultados mostraram que a biomembrana revelou características mecânicas compatíveis próximas ao da pele humana, não apresentando nos ensaios de citotoxicidade alterações frente as células de fibroblastos, estimulando as células inflamatórias e a angiogênese, alongamento considerável da colagênese, dando melhoria na cicatrização até a fase de remodelação induzida por implantes em camundongos[48].

No mesmo ano OLIVEIRA D.M.L. et al (2020), publicou sua pesquisa com biomembranas de camada dupla para administração de dois fármacos, composto por quitosana, hidroxipropilmetilcelulose e cloreto de lidocaína (fármaco anestésico) na primeira camada, e de nanopartículas de alginato de sódio-polimixina B sulfato (antibiótico) na segunda, apresenta resultados eficazes para reparo e regeneração de tecidos em um modelo animal. Através da microscopia eletrônica de varredura foi possível visualizar a incorporação dos fármacos analisando as secções transversais; além de ser uma membrana que manifesta uma notável espessura entre 0,01 a 0,02mm, com propriedades mecânicas adequadas com relação à elasticidade, rigidez, tensão e pH compatível para aplicação em lesões[49].

A polimixina B demonstra alta atividade antimicrobiana nos ensaios microbiológicos agindo contra as cepas de *Staphylococcus aureus* e *Pseudomonas aeruginosa*. O ensaio in vivo permitiu visualizar o potencial de cicatrização pelo cálculo do índice de retração da ferida e pela análise histológica[49].

RANA M. MD.; et al(2020) teve como objetivo desenvolver um dispositivo de hidrogéis à base de âmnio e colágeno, e verificar a eficácia na cicatrização de feridas cutâneas de queimadura em ratos. Após estimular a irritação da pele do rato e queimaduras de segundo grau os géis foram aplicados com/sem membrana de cobertura para estudar o comportamento da

ferida e o período de reepitelização. Os resultados dos dispositivos hidrogéis estudados obtidos foram como não citotóxicos e compatíveis com células sanguíneas humanas. No ensaio de irritação da pele não encontrou eritema e edema, sustentando a segurança e aplicabilidade. Apresentando agilidade na cicatrização comparado a outros dispositivos usados no estudo. Assim, conclui que o hidrogéis propicia alternativas para tratar feridas utilizando o dispositivo, o que pode exceder dificuldades associadas ao tratamento como altos custos, tempo de fabricação e armazenamento[50].

YUAN R.; et al (2023) desenvolveu um adesivo camada por camada (LBL) com microagulha (MN) revestidas com fator de crescimento epidérmico recombinante (LBL MN-rhEGF) para uma liberação sustentada no local do ferimento ligada por força eletrostática típica. Os resultados dos adesivos LBL MN-rhEGF apresentaram resistência mecânica aceitável para penetrar no estrato córneo, e os microcanais propicia a administração direta do ativo cicatrizante in vitro. A administração de rhEGF biomacromolecular segue o mecanismo de difusão da segunda lei de Fick, favorecendo a proliferação celular de fibroblastos dérmicos humanos normais (NHDF) e células endoteliais da veia umbilical humana (HUVEC) in vitro. Além da rápida cicatrização de feridas de ratos mecanicamente feridos em comparação com o curativo tradicional [51].

Chen, Y. et al.;(2016) juntamente com sua equipe criou curativos pós operatórios, oferecendo proteção e agilidade na cicatrização. O curativo consiste em um novo carreador de iodo, Carboximetil quitosana-g-(poli(acrilato de sódio)-co-polivinilpirrolidona) (CMCTS-g-(PAANa-co-PVP), na qual foi preparado por copolimerização por enxerto de acrilato de sódio (AANa) e N-vinilpirrolidona (NVP) em um esqueleto de carboximetil quitosana (CMCTS). Após a síntese a atividade biológica do CMCTS pode ser mantida, e o complexo final CMCTS-g-(PAANa-co-PVP)-I2 apresentou atividades bactericidas de amplo espectro para vírus, fungos, bactérias gram-positivas e bactérias gram-negativas no ensaio in vitro. Os resultados finais mostram que no ensaio clínico o curativo ou a biomenbrana (CABM) tem melhor eficácia de tratamento do que o tratamento convencional no cuidado pós-operatório da operação LEEP(procedimento excisional eletrocirúrgico de alça) [52].

3.4 Terapia fotodinâmica

A terapia fotodinâmica (TFD) surgiu acidentalmente por Oscar Raab em 1900, através da combinação de substância química e luz, na qual por intermédio de uma reação fotobiológica ocasionou a eliminação de protozoários. E deste então tornou uma modalidade terapêutica não invasiva para o tratamento de várias infecções [24], [53].

A TFD trata-se de uma reação fotoquímica, em que um composto fotossensibilizador submetido a uma luz onde ocorre a liberação de um comprimento de onda de luz apropriado para excitar a molécula do fotossensibilizador para então ser ativada; absorvendo fótons e levando uma série de reações envolvendo a produção de radicais e levando à espécies de oxigênio, no que se refere ao oxigênio singlete (Figura 5), principal agente tóxico que leva a morte celular por apoptose ou necrose. Atualmente a TFD tem tornado reconhecida como um tratamento eficaz, entre eles minimizando a ocorrência de resistência bacteriana [24], [53].

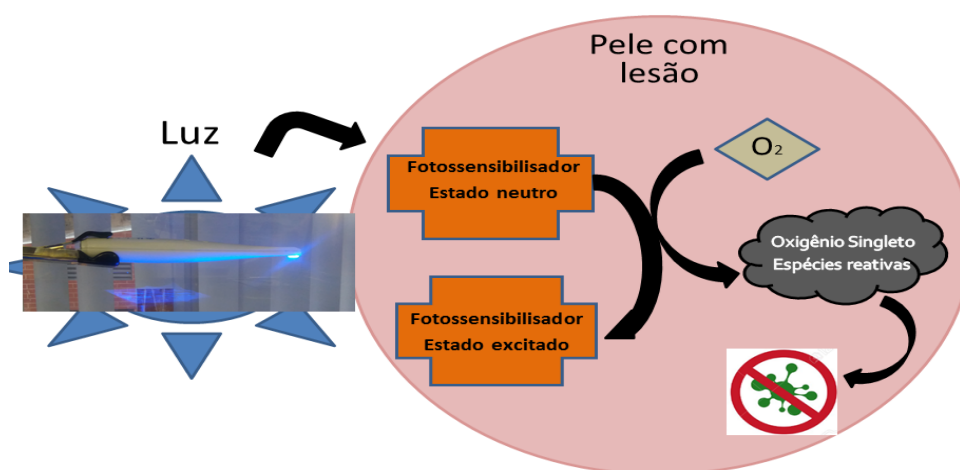


Figura 5 Representação da Terapia Fotodinâmica.

A TFD tem sido utilizada em várias áreas além da odontologia, pois representa um tratamento opcional antibacteriano, antiviral e antifúngico antagonista a organismos resistentes aos fármacos, com isso sendo empregada no diagnóstico fotodinâmico da transformação maligna de lesões orais, para tratamento do carcinoma bucal, infecção por fungos e bactérias. O método obteve em 1999 a aprovação pelo Food and Drug Administration com o intuito de tratar lesões cutâneas pré-cancerosas da face ou couro cabeludo[53].

Na execução da terapia fotodinâmica, após decorrer o intervalo fármaco luz, na qual cada fármaco tem seu período definido, aplica-se a luz no local dos tecidos ou células doentes e saudáveis que rodeiam a área infectada. Os impactos iniciais do procedimento acontecem bruscamente aos tecidos ou células. Seguido por uma sequência de ações decorrentes do processo da terapia, tais reações levam seletivamente os tecidos doentes e células à morte com preservação dos tecidos normais[54].

Uma investigação científica que reúne estudos relevantes a fim de compreender a utilidade da terapia fotodinâmica para feridas infectadas por bactérias em animais, dos 19

artigos de estudo, obteve que as feridas mediam numa faixa de 6 mm a $1,5 \times 1,5 \text{ cm}^2$ de diâmetro. Grande parte realizou estudos microbiológicos com as cepas *Pseudomonas aeruginosa* ou *Staphylococcus aureus*. Uma média de 11 a 17 ressaltou que a terapia fotodinâmica de lesões infectadas reduziu significativamente o tamanho da ferida e a contagem bacteriana. Outros analisaram o efeito da ação da terapia no tempo de cicatrização de feridas, peso corporal e níveis de citocinas de feridas infectadas. Grande parcela sugeriu resultados benéficos sobre essas variáveis. O método da terapia agilizou a cicatrização de feridas infectadas por bactérias, proporcionando a cicatrização dos ferimentos e inibindo as bactérias [55].

A construção do hidrogel de goma de gelana à base de fucoidano / alginato e nanofibrilas de carboximetilcelulose, foi avaliado frente a terapia fotodinâmica para cicatrização de feridas. O material analisado por métodos *in vitro* e *in vivo*, demonstrou capacidade em destruir células tumorais por meio do oxigênio singleto, com níveis aumentados de espécies reativas de oxigênio. Conseguiu ser observado pelos resultados que após a irradiação do laser houve um aumento significativo na morte celular, com cicatrização rápida, aumento de fibroblastos e fibras de colágeno. Sugerindo para uso terapêutico a fim de promover a cicatrização de feridas[23].

Um sério problema de saúde pública tem sido a existência de pacientes que apresentam feridas crônicas como úlceras diabéticas, diante desta situação foram exploradas o efeito da terapia fotodinâmica de baixa dosagem (LDPDT), a fim de estimular o processo de reparo celular e recompor a cicatrização de feridas, um estudo realizado *in vitro* usando modelos de feridas celulares normais e diabéticas. Através do ensaio de calorimetria MTT. O resultado apresentou que as células diabéticas apontaram aumento da migração e fechamento da arranhadura em comparação com as células normais em condições semelhantes. Assim foi possível sugerir que o LDPDT pode ter um efeito capaz de cicatrizar feridas diabéticas[17].

3.5 Sistemas de Liberação

Os sistemas de liberação de princípios ativos são formas farmacêuticas sólidas, onde o princípio ativo é misturado com outras substâncias (excipientes ou veículos) para se transformar em medicamento. Nos sistemas de liberação controlada (SLC) a liberação modula-se de acordo ao sistema utilizado, de forma tal que se alcance o nível plasmático e terapêutico no tempo desejado. A maioria dos sistemas de liberação controlada são baseados em matrizes poliméricas. Nas duas últimas décadas as matrizes hidrofílicas tornaram-se muito apreciadas na

formulação de formas farmacêuticas de liberação controlada. Os SLCs são classificados de acordo a seu mecanismo de liberação. O sistema matricial polimérico é preparado pela mistura de um polímero hidrofílico ou hidrofóbico e de um fármaco insolúvel. A utilização do polímero hidrofílico como matriz na formulação destes SLC fornece a combinação apropriada para que aconteçam os processos a partir do qual opera o mecanismo, sendo estes: intumescimento, difusão ou erosão, portanto é a matriz quem determina a cinética de liberação controlada [56].

A liberação controlada de princípios ativos permite diminuir o número de doses diárias obtendo um tratamento contínuo e, conseqüentemente, o desaparecimento de picos plasmáticos e a manutenção da concentração eficaz. Resultando em menor acúmulo de droga no organismo e proteção do princípio ativo à degradação por fluidos biológicos. Portanto, as principais características apresentadas pelo SLC matricial polimérico são: operar através do efeito sinérgico de vários processos (intumescimento, dissolução do princípio ativo, difusão ou erosão), atingir rapidamente a concentração terapêutica, manutenção dentro desta concentração[57].

A literatura reporta diferentes estudos sobre sistemas para transportar o fármaco a um local determinado do organismo, onde o princípio ativo deve ser liberado e absorvido. A Figura 6 resume comparativamente os sistemas convencionais com os sistemas de liberação controlada mais discutidas na literatura são elas: liberação retardada, repetida, prolongada, sustentada [44,45].

No sistema de liberação convencional (curvas 1 e 1.a) o fármaco é imediatamente liberado e, portanto, absorvido com rapidez e por completo, caracterizando-se o sistema pela formação de um pico plasmático. Algumas drogas necessitam apenas de uma dose (curva 1) por dia para manter níveis terapêuticos adequados no sangue. Porém, fármacos que não sejam de longa duração necessitam de doses diárias múltiplas (curva 1.a) para alcançar os resultados terapêuticos desejados. Os sistemas de liberação sustentada (curva 2) permitem a liberação imediata e mantêm constante a concentração plasmática do princípio ativo por um período, produzindo prontamente o efeito terapêutico desejado ao longo de um tempo predeterminado. A liberação pode ser sustentada pelos processos de difusão ou erosão. Os níveis de fármaco no plasma fornecidos pelo SLC sustentada, muitas vezes elimina a necessidade de várias dosagens, o que beneficia não só o paciente, mas também ao acompanhante [58].

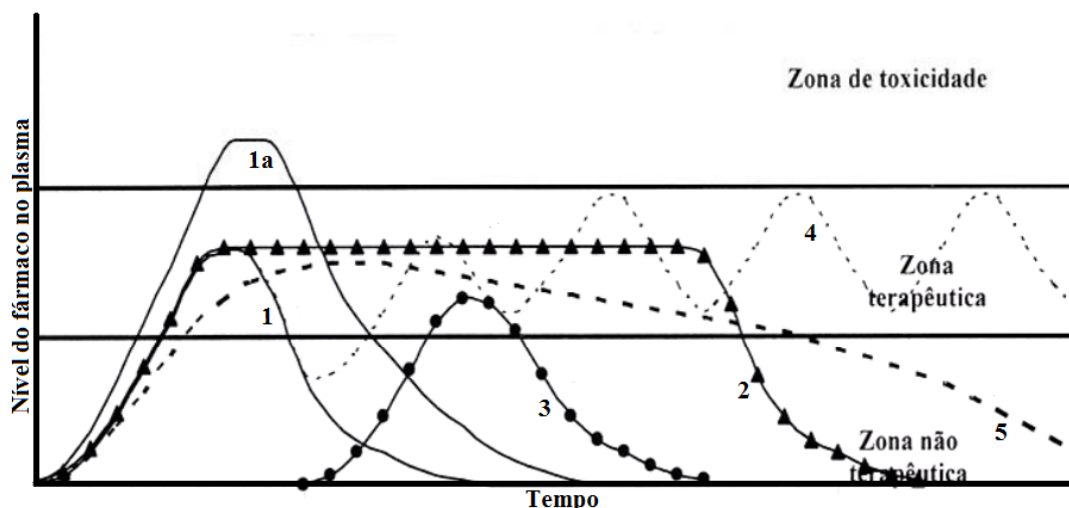


Figura 6 Perfis plasmáticos em diferentes sistemas de liberação

Fonte: VEIGA (1988)

- 1- Liberação convencional dose única
- 1.a- Liberação convencional dose dupla
- 2- Liberação sustentada
- 3- Liberação retardada
- 4- Liberação repetida
- 5- Liberação prolongada

Em sistemas de liberação retardada (curva 3) a liberação do fármaco não se inicia imediatamente após a administração, o SLC libera a droga em um certo momento diferente da administração. O atraso pode ser baseado no tempo ou baseado na influência de condições ambientais, como pH gastrointestinal. Para o sistema de liberação repetida (curva 4) ocorre a liberação de uma dose individual logo após a sua administração, entretanto este SLC é desenhado para fármacos que necessitem ser administrados mais de uma vez ao dia, causando picos(vales) sequenciais no nível terapêutico. Estes picos(vales) estão associadas com a liberação de cada dose através de um sistema específico de controle[58]. No sistema de liberação prolongada (curva 5), o princípio ativo é disponibilizado através de uma primeira liberação imediata, afim de produzir o efeito terapêutico desejado sem causar danos ao organismo e, posterior manutenção com liberação gradual, a fim de prolongar a extensão da resposta terapêutica[58].

3.5.1 Mecanismo de Liberação Controlada em Sistemas Matriciais Poliméricos.

Os SLCs de princípios ativos em formulações farmacêuticas baseadas em matrizes poliméricas têm crescido nas últimas décadas. A indústria farmacêutica tem buscado novos sistemas de liberação controlada visando oferecer maior conveniência ao paciente, sendo assim um grande número de SLC de fármacos bem sucedidas têm sido desenvolvidos. No entanto, o desenvolvimento de SLC de fármacos se baseia em uma avaliação minuciosa e criteriosa do sistema matricial. A modelação matemática de SLC tem facilitado o estudo destes sistemas de maneira a prever a difusão e as taxas de liberação de fármaco a partir de modelos matemáticos apropriados, reduzindo assim o número de experiências necessárias[59].

Um sistema matricial polimérico é caracterizado como um sistema que controla a liberação do fármaco, molecularmente disperso ou dissolvido numa matriz polimérica resistente à desintegração[56].

Para classificar um sistema matricial devem ser considerados diferentes fatores tais como: natureza química e estrutura da matriz, cinética de liberação (idealmente de ordem zero), o mecanismo através do qual a liberação é controlada, e descrever os processos através do qual o princípio ativo é liberado: intumescimento, difusão e erosão.

O SLC opera através das estruturas matriciais poliméricas, quando estas entram em contato com o meio de dissolução (ou fluido biológico) podem manter sua estrutura aproximadamente estável ao longo de todo o processo de intumescimento, dissolução e difusão ou podem sofrer um fenômeno de intumescimento e, seguida de erosão[56].

Portanto, o mecanismo e a velocidade de liberação do fármaco em matrizes poliméricas pode ser descrita por um ou mais dos processos cinéticos citados abaixo[59]:

- a) Intumescimento
- b) Difusão
- c) Erosão

O mecanismo de liberação de fármacos através de matrizes poliméricas acontece por diferentes mecanismos através dos processos cinéticos, acima citados, em decorrência das propriedades da matriz polimérica. A Figura 7 e Figura 8 representam os mecanismos de liberação para matrizes poliméricas hidrofóbicas e hidrofílicas, respectivamente.

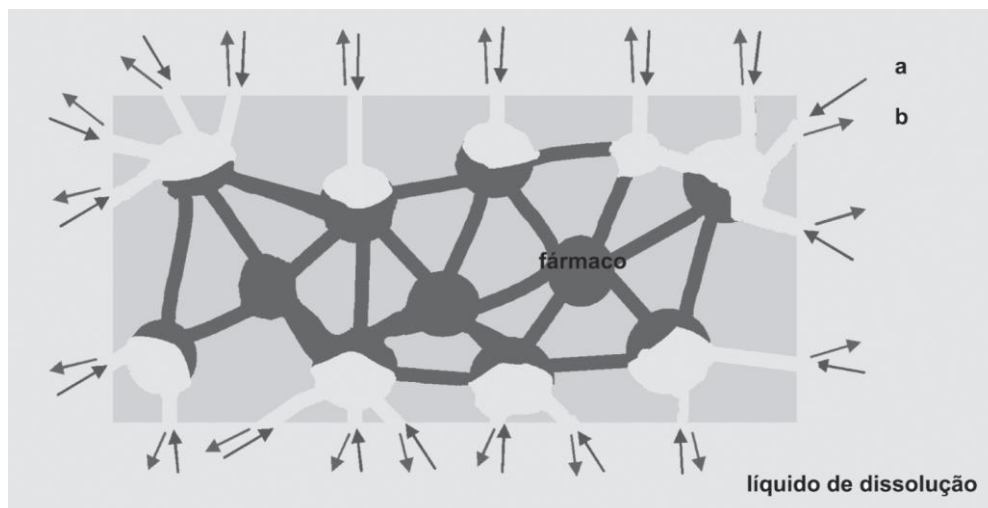


Figura 7 Ciclo de liberação dos fármacos em um sistema matricial inerte ou hidrofóbicos:
(a) penetração do líquido; (b) difusão lenta do fármaco dissolvido até o exterior.

A Figura 7 representa o mecanismo de liberação regido pelo processo de difusão quando a matriz polimérica é hidrofóbica ou inerte. Nestes sistemas o mecanismo de liberação acontece essencialmente pelo processo de difusão através dos poros. Porém, o mecanismo de liberação pode acontecer por um processo de erosão, prevalecendo um processo ou outro de acordo com as propriedades da matriz e princípio ativo.

No mecanismo representado na Figura 7 o polímero, que constitui a matriz inerte é insolúvel, apresenta estrutura porosa. O fármaco está disperso no interior da matriz polimérica e a interfase sólido/líquido de dissolução é dizer a superfície da matriz não é modificada ao longo de todo o processo de liberação. Estes SLC não sofrem alteração no trato gastrintestinal, sendo eliminados do organismo praticamente intatos. O mecanismo de liberação nestes sistemas, de acordo com a Figura 7, acontece em 3 etapas: (a) o líquido de dissolução penetra pelos poros da matriz, (a.1) o fármaco é dissolvido e, finalmente, (b) acontece a difusão lenta do fármaco dissolvido através dos canais da estrutura porosa da matriz. A etapa mais lenta e, portanto, a etapa limitante da cinética de liberação, é a penetração do líquido de dissolução na matriz.

A Figura 8 representa o mecanismo de liberação regido pelo processo de intumescimento e erosão em uma matriz polimérica hidrofílica. As matrizes poliméricas hidrofílicas se caracterizam por liberar de maneira controlada o fármaco devido a sua capacidade de intumescer e relaxar.

Esta capacidade pode ser descrita através da transição dos polímeros do estado vítreo ao estado borrachoso (tg), neste caso específico a transição pode ser descrita como uma transição do sistema de um estado vítreo “não intumescido” para um estado borrachoso

“maleável”, como consequência do processo de intumescimento da matriz. Isto porque a água é um plastificante e consequentemente devido ao intumescimento da matriz T_g do polímero baixa. Esta transição permite que as cadeias anteriormente no estado vítreo (estado de configuração altamente emaranhado) passe ao um estado maleável, o que está associado com o processo de intumescimento/relaxamento.

A Figura 8 representa as diferentes etapas que envolve o mecanismo de liberação em matrizes poliméricas hidrofílicas. Podemos ressaltar que neste mecanismo a liberação controlada está acontecendo em cada etapa (a partir da etapa 2), através dos processos que operam sinergicamente: intumescimento/difusão e intumescimento/erosão.

Primeiramente, (1) temos o SLC no estado seco. Em uma segunda etapa, (2) a matriz hidrofílica entra em contato com a dissolução ou fluido biológico (gastrointestinal), iniciando-se o processo de absorção de água, principalmente pelos poros do sistema matricial. Primeiramente, após a hidratação o fármaco que está presente na superfície do polímero é imediatamente liberado. Nesta etapa, na superfície do polímero que já está se intumescendo acontece a transição vítrea/maleável que chamamos de transição intumescimento / relaxamento. Formando-se portanto, uma camada gelatinosa de polímero (estado maleável ou relaxado) em torno do núcleo seco do SLC [43,46,47].

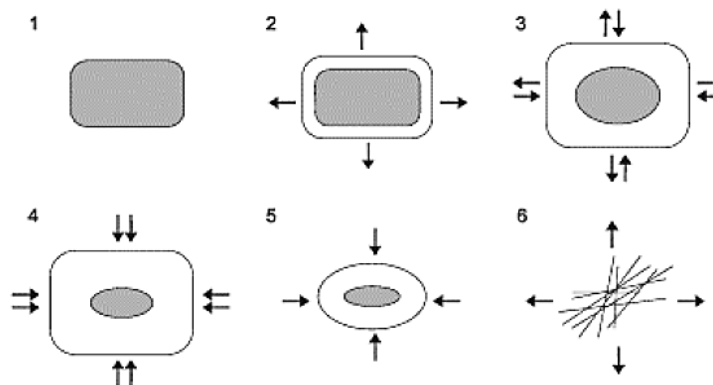


Figura 8 Alterações observadas nos sistemas matriciais hidrofílicos que intumescem e sofrem erosão

1- matriz seca; 2- início do intumescimento da matriz; 3 e 4 –ocorre crescente hidratação e intumescimento da matriz com diminuição do núcleo seco e começo da erosão das cadeias poliméricas; 5- aumento da erosão das cadeias; 6- separação das cadeias poliméricas liberando rapidamente o restante do fármaco.

As setas duplas apresentadas nas etapas 3 e 4 (Figura 8) representam a água que continua a penetrar na matriz ($\rightarrow$), mas agora não apenas pelos poros e sim sobretudo através da camada gelificada (cadeias poliméricas relaxadas), que, lentamente, se formam. Simultaneamente nesta etapa acontece a difusão do fármaco para o alvo ($\leftarrow$). Nesta etapa o núcleo seco começa o processo de hidratação e, a camada exterior gelificada começa a sofrer erosão. Estes dois fenômenos ocorrem simultaneamente e o sistema matricial mantém uma estabilidade dimensional mais ou menos constante (3 e 4). Esta etapa é a que mantém o fármaco sendo liberado de maneira controlada (liberação sustentada) no tempo.

Na etapa 5, temos que na superfície da matriz polimérica altamente intumescida a força das interações polímero-água começam a aumentar respeito a força da interação polímero-polímero. Portanto, quando a concentração de água excede certo valor crítico as cadeias poliméricas começam a se separar, alargando os espaços onde a difusão do fármaco ocorre. É dizer a taxa do processo de erosão aumenta, consequentemente a taxa de hidratação do núcleo diminui. Na etapa 6, as cadeias poliméricas do núcleo já intumescida se estendem e dispersam-se na camada mais externa, resultando em maior aumento da taxa de erosão. Consequentemente, uma maior erosão aumenta ainda mais a distância entre as cadeias, ao não permanecer interligadas as cadeias o SLC subsequentemente é totalmente desintegrado, e o fármaco restante é liberado [43,46,47].

4 METODOLOGIA

4.1 Materiais

No decorrer do desenvolvimento experimental foram necessários os equipamentos e reagentes descritos a seguir. Todos os reagentes foram utilizados sem prévia de purificação.

- Curcumina (Sigma –Aldrich, C1386 - 65% pureza)
- Dimetil Sulfóxido, P.A. (Isotar)
- Ácido bórico (Merck)
- Álcool Etílico 95% (Vetec)
- Etanol P.A. (Sigma-Aldrich)
- Agitador Magnético com aquecimento (NI 1108–Nova Instrumentos)
- Balança Analítica (Mod. AY 220 – Marte)
- TGA – Termogravimétrica Shimadzu, modelo TGA 50 (LAT-UNIFEI)
- FTIR - Espectroscopia no Infravermelho com Transformada de Fourier Shimadzu, modelo IRTracer 100 Series (LAT-UNIFEI)
- UV - Espectrofotômetro UV-vis (Cary ® 50 Scan) (Central Analítica – IFQ-UNIFEI)
- MEV – Microscopia Eletrônica de varredura 9 modelo EVO MA 15)
- MF – Microscopia de Fluorescência
- LASER Led Curing Light Aigh – 7A
- Difratorômetro de raios X Rigaku, modelo Ultima IV (Laboratório de Cristalografia - UNIFAL)
- Meio Ágar Muller Hinton (KASVI)
- Meio Ágar TSB (KASVI)
- Cepas Gram-positiva, *Staphylococcus aureus* LB25923 e Gram-negativa, *Escherichia coli* LB25922 (Laboratório de Microbiologia IRN-UNIFEI)

4.2 Metodologia: Descrição e Fundamentos

O polímero dendrímero de poliglicerol (PGLD) e o conjugado de dendrímero de poliglicerol boro-curcumina (PGLDBC) utilizado neste trabalho foram sintetizados e caracterizados em trabalhos anteriores pelo grupo de Biomateriais da UNIFEI, no qual tem estudado as propriedades físico-química e bioquímicas do bioconjugado de dendrímero de poliglicerol livre e associado a outros materiais ativos, dentre eles a curcumina. Ao longo destes estudos foram obtidos resultados satisfatórios relacionados a biocompatibilidade, funcionalidade como sistema carreador de princípio ativo[61].

4.2.1 Síntese do Conjugado de Dendrímero de Poliglicerol (PGLD) com complexo de Boro-Curcumina (PGLDBC) e Dendrímero de Poliglicerol com curcumina (PGLDC)

A síntese e caracterização do PGLD e PGLDBC foram efetuadas de acordo com trabalhos anteriores do grupo de Biomateriais da UNIFEI. O desenvolvimento do PGLD teve como base a síntese de Williamsom modificada pela utilização de um catalisador de transferência de fase; com estrutura de dendrímero via policondensação em etapas do tipo divergente[61].

A síntese do conjugado PGLDBC foi realizada em um reator de vidro encamisado, no qual foram inseridos os materiais dendrímero, boro e água com agitador magnético e um dispositivo termopar. Sob agitação e refluxo utilizando Dean-Stark o material foi aquecido, considerando completa a reação em ausência total de água, posteriormente adicionando curcumina e novamente aquecida formando uma solução de coloração vermelha característica do complexo rosocianina (Roc)[62]. Para a síntese do PGLDC utilizou-se o mesmo sistema de síntese, entretanto sem a adição do boro e água, apenas com os materiais livres dendrímero de poliglicerol (27,56g), curcumina (1,79g) e etanol (20mL).

4.2.2 Preparação da membrana de Quitosana com PGLDBC e PGLDC

As membranas QUI-PGLDBC e QUI-PGLDC foram desenvolvidas a partir da mistura física em solução, da quitosana e dendrímero de poliglicerol conjugado boro-curcumina (PGLDBC) e dendrímero de poliglicerol conjugado com curcumina (PGLDC). Após a solubilização de 0,25g de quitosana em 25mL de solução tampão acético 0,2mol, realizou-se a mistura por agitação mecânica e aquecimento (60°C) junto ao conjugado PGLDBC e PGLDC na proporção de 1:5 até total homogeneização do mesmo.

4.2.3 Caracterização Físico-química

Para cada método de caracterização da se o início com um prevê comentário do ensaio, seguida da descrição da metodologia com seus respectivos parâmetros.

4.2.3.1 Caracterização por Termogravimetria (TG)

Na termogravimetria levou-se um longo tempo de pesquisa para obter conhecimento detalhado sobre as alterações que o aquecimento poderia causar no material, mas especificamente na sua massa, com disposição para conseguir estabelecer a faixa de temperatura em que se inicia a decompor, assim como para seguir o processo de reações de desidratação, oxidação, decomposição, entre outros. Dá-se início a Análise Termogravimetria (TGA), um método de análise térmica em que a variação de massa da amostra é definida em função da temperatura ou tempo de aquecimento, utilizando um programa controlado de temperatura, sendo de grande importância para caracterizar o material em análise. Na Análise Termogravimetria derivada (DTGA) são obtidas curvas que correspondem a derivada primeira da curva TGA em que as inflexões apresentadas são substituídas por picos que delimitam áreas proporcionais as modificações de massa ocorridas pelo material [63].

A caracterização através de TGA foi realizada por meio de termobalança em atmosfera de oxigênio com fluxo de 25mL/min, taxa de aquecimento de 10°C/min, para as amostras CC, PGLDC, QUI, QUI-PGLDC, QUI-PGLDBC foram pesados respectivamente e acondicionadas em cadinho de alumina e analisadas separadamente na faixa de temperatura entre 25°C e 800°C, os parâmetros foram tratados posteriormente.

4.2.3.2 Caracterização por Espectroscopia no Infravermelho com Transformada de Fourier (FTIR)

Espectroscopia de Infravermelho com Transformadas de Fourier (FTIR) é uma das técnicas espectroscópicas mais aplicadas para caracterização de materiais, capaz de conceder informações mais afinadas da estrutura da amostra analisada, identificando diferentes grupos funcionais constituintes. O método identifica as ligações químicas presentes na amostra por meio das frequências de vibração e alongação específicas de cada ligação intra e intermolecular em determinado número de onda. Assim para cada material analisado, terá como, cada grupo funcional apresentado valores diferentes e característicos para vibração, alongação e rotação; a leitura do espectro e as suas bandas respectivas, permitindo a verificação dos tipos de grupos funcionais que constituem a amostra ou material em análise [51,52].

O FTIR foi utilizado para detectar e caracterizar compostos presentes nos materiais

livres e nos filmes. Para obter os espectros de infravermelho dos materiais foi utilizado o equipamento espectroscópio no infravermelho com transformada de Fourier na região 4000 a 650 cm^{-1} , com acessório para Reflectância Total Atenuada (ATR). As amostras foram colocadas diretamente sobre a superfície do cristal (diamante + cianeto de zinco) do acessório de ATR e com auxílio de uma ponteira. Realizou-se 16 varreduras com resolução de 4 cm^{-1} . Os espectros obtidos foram normalizados e as bandas de vibração foram associadas aos principais grupos químicos.

4.2.3.3 Caracterização por Difração de Raios-X

Difratômetro de raios-x é uma técnica usada para determinar a estrutura atômica e molecular de um cristal, na qual consiste em incidir uma radiação em uma determinada amostra, difratando em várias direções específicas, em virtude de seu espaçamento uniforme. E com a medida dos ângulos de difração dos raios emergentes permite determinar a distância entre os planos atômicos da amostra, assim como a sua estrutura cristalina [66], [67], [68].

No presente trabalho, utilizou-se a difração de raios X para confirmar a presença dos cristais da curcumina nas membranas analisadas, na qual foram analisadas em um difratômetro de raios-X modelo Rigaku Japan, usando irradiação de $\text{CuK}\alpha$ com comprimento de onda $\lambda = 0,154 \text{ nm}$ e monocromador de grafite. A faixa de varredura (passo - 2θ) foi de 5 a 50°, com intervalos 0,02° e velocidade de varredura de 5,0 s/passos.

4.2.3.4 Caracterização da Morfologia por Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV) e Microscopia de Fluorescência

A microscopia eletrônica de varredura (MEV) consiste na interação entre os elétrons e a matéria, onde feixe de elétrons de pequeno diâmetro partidos de uma fonte geradora, é direcionada continuamente sobre a superfície da amostra ocorrendo uma varredura. Deste modo, o detector transmite as informações geradas entre a interação dos elétrons com a superfície da amostra sendo traduzidos pelo equipamento e produzindo alta definição das imagens [66], [69].

O equipamento teve como propósito a caracterização da morfologia das membranas de Quitosana (Qui), Quitosana+Dendrimero (QUI-PGLDB) e Quitosana+Dendrimero/Boro + Curcumina (QUI-PGLDBC), onde foram analisadas empregando-se a técnica de microscopia eletrônica de varredura. Para isto utilizou-se um MEV de bancada, modelo EVO MA 15, marca Zeiss, profundidade de foco (WD) 16-19 mm, tensão 15 KV, para a análise as amostras foram fixadas em uma fita de carbono dupla face e previamente recobertas com ouro (durante 30 seg).

A microscopia de fluorescência é uma técnica que consiste na utilização de agentes fluorescentes ou o próprio material analisado já é fluorescente, afim de assinalar ou detectar com precisão o material analisado, como exemplo: estruturas e compartimentos celulares e proteínas específicas, entre outros. Pois a fluorescência é um fenômeno em que um material analisado é capaz de absorver a energia da luz (recebe emissão de luz e as moléculas atingem um estado de excitação e passam para um estado mais energético) em determinado comprimento de onda e reemiti-la em um diferente comprimento de onda (quando os elétrons retornam ao seu estado inicial, emitem uma quantidade de energia em forma de luz) [57][71].

A microscopia de fluorescência foi empregada a fim de investigar a distribuição da curcumina nas soluções das biomembranas, uma vez que a curcumina apresenta forte fluorescência [72]. Para este propósito, as amostras de PGLDBC e PGLDC devidamente depositadas em lâminas, foram excitadas usando um comprimento de onda centrado em 486 nm para sua intensidade máxima de emissão. As micrografias de fluorescência foram obtidas por Microscopia de Fluorescência invertido da marca Leica DMi8, lente objetiva de 20X sem óleo de imersão e lente com aumento de 63X com óleo de imersão.

4.2.4 Estudo da atividade antimicrobiana *in vitro* das Biomembranas

O antibiograma é um teste de suscetibilidade a antimicrobianos, de grande significância para o meio clínico, a qual tem por finalidade estabelecer a sensibilidade dos microorganismos quando submetidos à ação dos antimicrobianos. Dentre esses testes, está o método de disco-difusão, em que um disco de papel filtro é embebido com um antimicrobiano e colocado em uma placa de ágar previamente inoculada e incubada com o microrganismo. Posteriormente, caso o antimicrobiano apresentar eficiência, uma região circular clara manifestara ao redor do disco, representando a ausência do crescimento da bactéria, da qual o diâmetro é medido e interpretado segundo o material estudado e de acordo com as normas da CLSI (Clinical Laboratory Standards Institute) [73].

Este ensaio teve como objetivo avaliar a atividade antimicrobiana do material sintetizado neste estudo. As amostras (curcumina livre e PGLDC) foram analisadas quanto aos teores de curcumina referente ao MIC (concentração mínima inibitória). Na primeira etapa foram estudadas amostra de PGLDC e Curcumina nas concentrações de 10 µg/mL a 2000 µg/mL. Na segunda etapa, analisou as amostras PGLDBC e PGLDC em duas concentrações de 500 µg/mL e 2000 µg/mL na presença do laser (Figura 9) em dois tempos (1 e 7 min) de exposição ao equipamento.

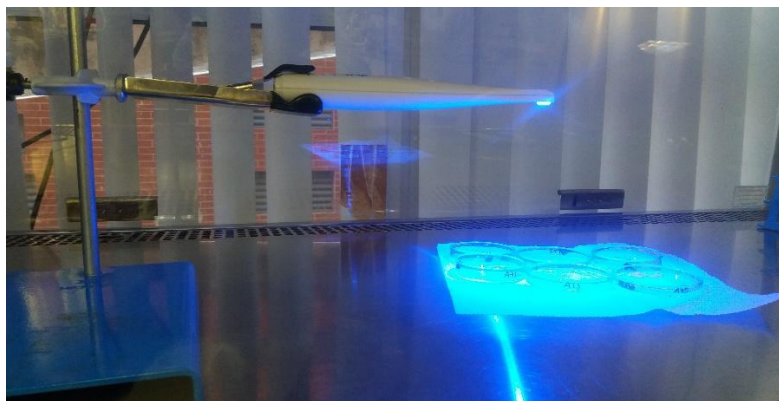


Figura 9 Demonstração da utilização do laser frente as amostras.

Em suma, a inibição de zona do crescimento bacteriano indica a atividade antimicrobiana. Duas cepas de referência [American Type Coleção de culturas (ATCC)] de bactérias gram-positivas *Staphylococcus aureus* ATCC 6538 e gram-negativas *Escherichia coli* ATCC 8739 foram utilizadas neste estudo. As cepas bacterianas foram removidas das placas de cultura preservadas e suspensas em solução salina estéril (Cloreto de sódio a 0,9%, NaCl). A suspensão bacteriana padrão será padronizada em 10^8 células mL^{-1} usando a escala MacFarland 0,5 e semeada na superfície das placas de ágar Muller-Hinton com swabs estéreis. Na primeira etapa as amostras de CC e PGLDC foram colocados em discos de papel estéreis de 6 mm de diâmetro e impregnados com $10\mu\text{L}$ de soluções, para cada concentração estudada e colocadas em cultura bacteriana e incubadas por 24 horas a 37°C . A zona de inibição formada em torno das amostras será medida de acordo com os padrões CLSI (anteriormente NCCLS) para testes de difusão da sensibilidade do disco. Todos os testes foram realizados em triplicata, os diâmetros dos halos de inibição formados em torno das amostras foram expressos em milímetros.

A atividade antimicrobiana *in vitro* da segunda etapa também foi determinada pelo método de difusão em ágar. As amostras de PGLDBC e PGLDC foram dispostas em discos de papel estéreis de 6 mm de diâmetro, impregnados com $10\mu\text{L}$ de soluções dos materiais sintetizados, em seguida submetidos ao laser a uma distância de 13cm e nos tempos pré-determinados dentro de uma capela de fluxo laminar. Esses, foram depositados sobre o meio de cultura contendo ágar Müller Hinton e as placas incubadas a $36 \pm 1^\circ\text{C}/24\text{ h}$, utilizou paquímetro digital afim de medir os diâmetros dos halos formados em volta dos discos, sendo possível determinar a inibição do crescimento bacteriano. O método foi realizado de acordo com a “Padronização dos Testes de Sensibilidade a Antimicrobianos por Disco-difusão” [74].

4.2.5 Estudo de liberação *in vitro*

4.2.5.1 Estudo da Liberação da Curcumina nas biomembranas

Os sistemas terapêuticos transdérmicos (TTSs) é um sistema eficiente na qual favorece o acesso dos fármacos através da pele, com a finalidade de alcançar a circulação sanguínea, para obter efeitos sistêmicos, com isso se faz relevante realizar estudos que caracterizem este sistema como o processo de difusão e permeação do princípio ativo após a aplicação, pois pequena parte de fármacos são apresentarem características adequadas à administração transdérmica, ao possuírem propriedades físico químicas adequadas para difundirem na pele[58], [75], [76].

4.2.5.2 Curva de calibração para estudo da liberação “*in vitro*” das Biomembranas

Para determinar a curva de calibração da curcumina foi utilizado espectrofotômetro UV-vis Cary ® 50 Scan. Partindo de uma solução de curcumina, preparada utilizando-se 10mg de curcumina e dissolvida em 5mL de dimetilsulfóxido (DMSO), obtendo-se uma concentração de 2 mg/mL. A partir desta solução foram realizadas diluições nas concentrações de 0,5 mg/mL; 0,75 mg/mL; 1 mg/mL; 1,25 mg/mL; 1,5 mg/mL e 1,75 mg/mL. Estas soluções foram analisadas no espectrofotômetro, medindo a absorbância no comprimento de onda de 435 nm para cada solução. A curva de calibração da curcumina foi determinada com o objetivo de auxiliar na determinação do estudo de cinética de liberação da curcumina presentes nas biomembranas [77].

4.2.5.3 Estudo da Liberação da Curcumina presentes nas biomembranas

As Biomembranas PGLDBC e PGLDC foram previamente preparadas conforme descrito no item 4.2.2, o estudo “*in vitro*” foi realizado em triplicata. As amostras foram colocadas em recipientes contendo 10mL de solução tampão de Fosfato e Salina-PBS (pH 7,4) e solução de ácido clorídrico (pH 2,0) ambas submetidas as duas temperatura (37°C e 40°C) em estufa (com temperatura controlada) e mantidas tampadas com parafilme e sem agitação durante todo o experimento conforme demonstrado (Figura 10).

O meio de liberação constituído por ambas as soluções, o meio foi condicionado à temperatura de 37°C e 40 °C antes de serem adicionados às amostras. Após a adição das biomembranas PGLDBC e PGLDC realizou-se a liberação controlada, alíquotas (3 mL) foram retiradas em um tempo pré-determinado (antes da retirada de cada alíquota o sistema foi manualmente homogeneizado por agitação) [78].

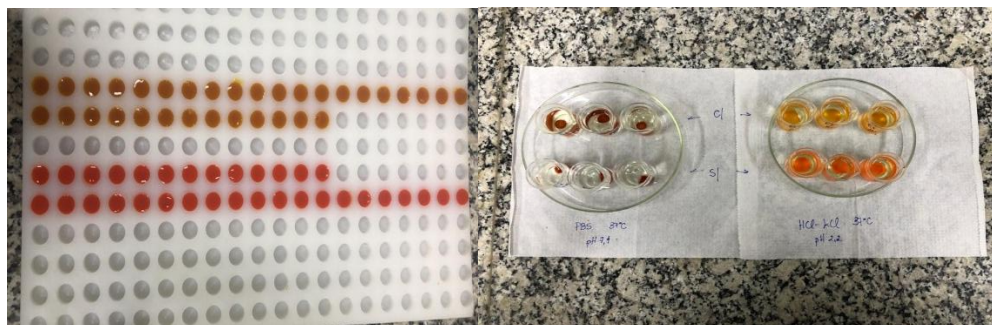


Figura 10 Representação do preparo para o estudo de liberação

As retiradas das alíquotas foram realizadas em intervalos de tempos pré-determinados, na primeira hora coletados de 15 em 15 min, na segunda hora de 30 em 30 min, na terceira hora em diante intervalos de 1 hora. A cada alíquota retirada foi realizada a reposição do mesmo volume, com a solução PBS e ácido Clorídrico. As alíquotas retiradas foram identificadas e levadas ao Espectrofotômetro, para obter o espectro UV-vis e assim determinar a concentração de curcumina liberada. A concentração de curcumina liberada nas amostras foi determinada utilizando a curva de calibração previamente preparada, como descrito no item 4.2.5.2.

5 DISCUSSÃO E RESULTADOS

5.1 Caracterização Físico-química

A atividade antimicrobiana da curcumina é limitada pela sua escassa solubilidade em água, desta forma o primeiro objetivo desta Tese é formar conjugados da curcumina e complexo curcumina-boro com um dendrímero de poliglicerol (PGLD), sintetizado no laboratório, a fim promover a biodisponibilidade e favorecer efeito antimicrobiano deste fármaco em formulações de curativo para tratamento de feridas.

A caracterização físico-química destes conjugados e do filme formado pela mistura física em solução da quitosana (QUI) e os conjugados PGLD com curcumina (PGLDC) e PGLD com o complexo Curcumina-Boro (PGLDBC) é mostrada a seguir.

5.1.1 Análises Térmicas - Caracterização por Termogravimetria (TGA)

A Figura 11 mostra as curvas de TGA e DTGA, respectivamente das amostras de PGLD, Curcumina (CC) e conjugado PGLDC. Na Tabela 1 estão resumidas as principais características retiradas das curvas TGA e DTGA. Através da Tabela 1 é possível observar que o teor de umidade é maior no conjugado PGLDC na faixa de 25 – 147,5°C. Segundo a literatura, em atmosfera ar, a curcumina após a perda de umidade degrada termicamente em dois estágios e, até 800°C a degradação é completa. Sendo a perda de maior teor a do segundo estágio de degradação[79].

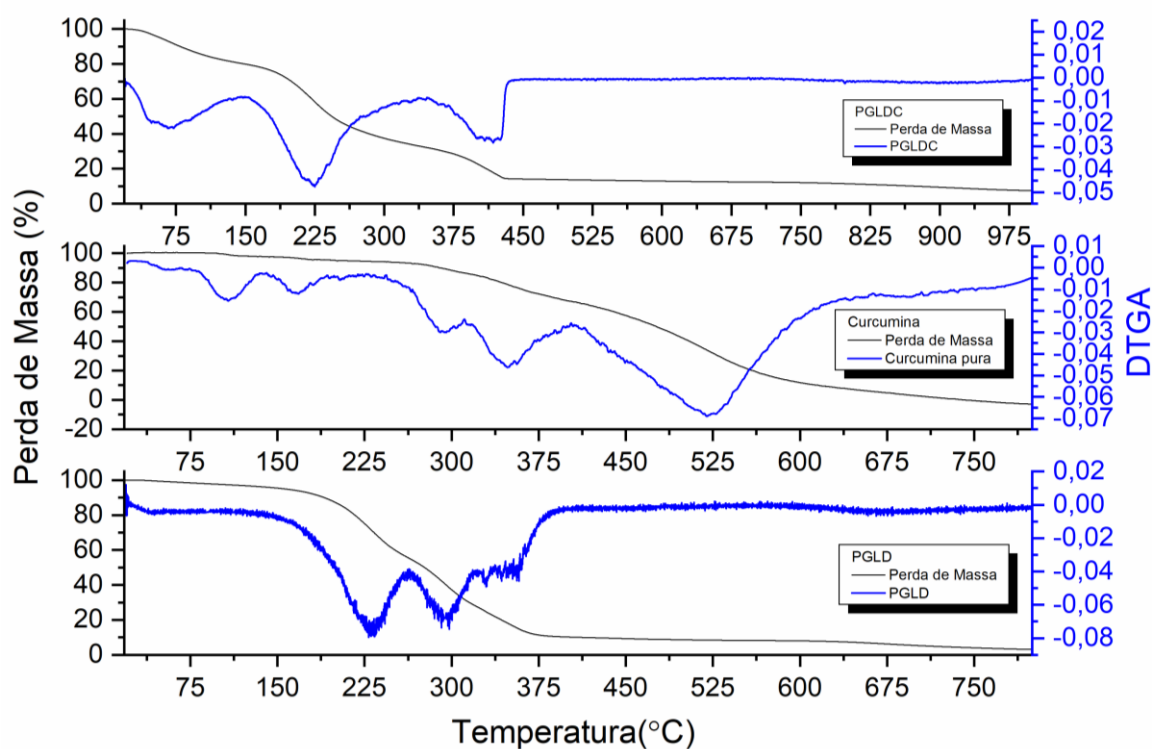


Figura 11 TGA e DTGA comparativo PGLD, CC e Conjugado PGLDC

Tabela 1 Características da análise térmica, retirada das curvas TGA e DTGA da Figura 11 **Erro! Fonte de referência não encontrada.**, respectivamente.

Características das perdas de massas		Amostras		
		PGLD	CC	Conjugado PGLDC
1ºperda	Faixa (°C)	25 - 150	25 - 140	25 – 147,5
	T _m (°C)	43	106	68
	Teor (%)	3,6	3	19
	Assinação	umidade	umidade	umidade
2ºperda	Faixa (°C)	150 - 260	140 - 240	147,5 - 340
	T _m (°C)	230	166	222
	Teor (%)	41	3,3	49
	Assinação	grupos laterais	grupos laterais	grupos laterais
3ºperda	Faixa (°C)	260-320	240 - 312	340 - 440
	T _m (°C)	294	294	410
	Teor (%)	27,2	8,6	18
	Assinação	cadeia principal	grupos laterais	cadeia principal
4ºperda	Faixa (°C)	320 - 390	312 - 400	440 - 800
	T _m (°C)	-	348	-

	Teor (%)	16,3	19	2
	Assinação	cadeia principal	grupos alifáticos	composto estáveis
5° perda	Faixa (°C)	390 - 800	400 - 800	-
	T _m (°C)	-	520	-
	Teor (%)	12,8	66,1	-
	Assinação	compostos estáveis formados	anéis aromáticos	-
Resíduo (%)		3,5	-	12

T_m: temperatura de máxima degradação (determinada pela curva DTGA)

Faixa: início e final da degradação (curva TGA)

Teor: porcentagem de perda de massa (curva TGA)

Em nosso estudo a degradação térmica da curcumina também manifesta uma maior perda de massa nos dois últimos estágios de degradação, com temperatura de máxima degradação a 348°C (19% de perda) e 520°C (66,1% de perda). Porém, antes destas duas perdas de massa considerável, se observam dois estágios de perda de massa pequena, à temperatura de máxima degradação de 166°C (3,3%) e 294°C (8,6%). Atribuímos estas perdas aos grupos laterais. A curcumina degrada completamente, não apresentando resíduo a 800°C.

Logo após a perda de umidade o PGLD apresenta uma temperatura de máxima degradação a 230°C, neste estágio o polímero perde 40% de sua massa. Atribuímos esta perda de massa ao grande volume de grupos hidroxilas terminais do dendrímero. O próximo estágio de perda aparece à temperatura de máxima degradação de 294°C e representa um 27,2%, atribuímos esta perda à quebra das ligações das ramas do polímero arborescente. As perdas de massa que seguem, acreditamos seja de compostos estáveis que se formam na degradação. O dendrímero de PGLD apresentou um resíduo de 3,5% a 800°C.

No conjugado a perda dos grupos laterais não sofre mudanças se comparado ao PGLD puro. Porém, o segundo estágio de degradação mostra uma estabilização térmica, pela presença da curcumina. Neste estágio a temperatura de máxima perda se observa a 410°C.

A Figura 12 mostra comparativamente o TGA e DTGA dos conjugados estudados, ambos têm o mesmo perfil de degradação térmica mostrando-se ligeiramente mais estável o conjugado PGLDCB. A curva DTGA, mostra que no penúltimo estágio de degradação do conjugado PGLDCB apresenta uma temperatura de máxima perda em 420°C, 10°C acima do conjugado PGLDC. O conjugado PGLDCB também mostra um resíduo maior a 800°C, igual a 13,88%.

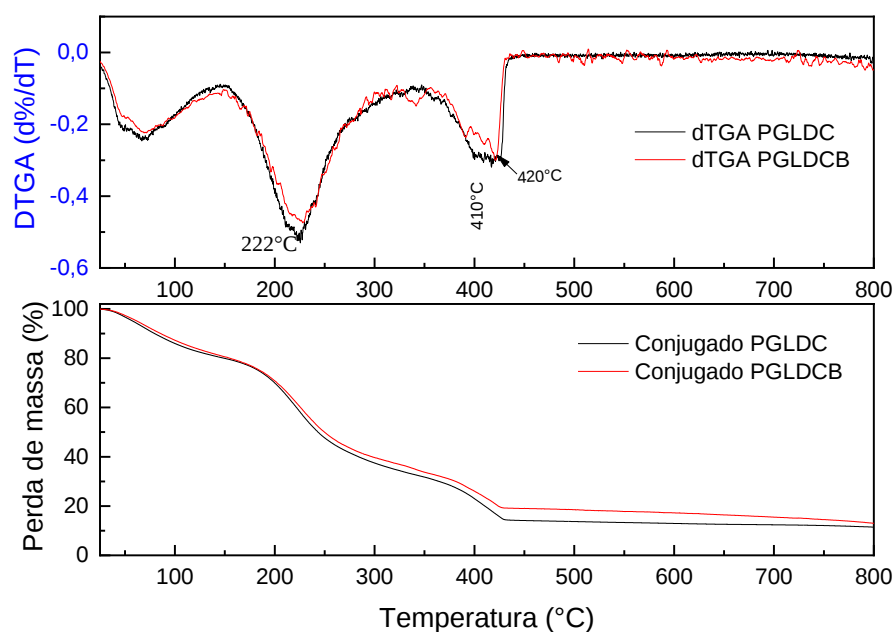


Figura 12 DTGA e TGA comparativo dos conjugados PGLDC e PGLDCB

A Figura 13 e Figura 14 mostra o TGA e DTGA, respectivamente do dendrímero de PGLD, quitosana e os filmes dos conjugados de Qui-PGLDC (QUI/PGLD:C) e Qui-PGLDCB (QUI/PGLD:C-Boro).

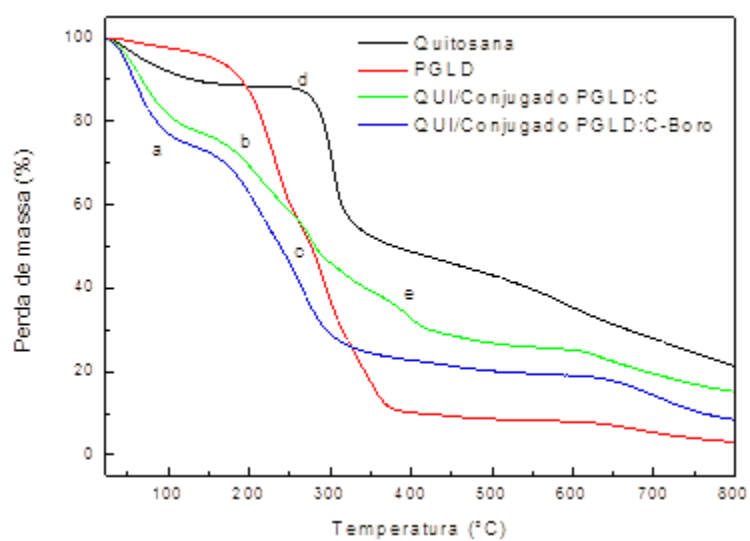


Figura 13 TGA comparativo do dendrímero PGLD, da quitosana e dos filmes conjugados de QUI-PGLDC e QUI-PGLDCB

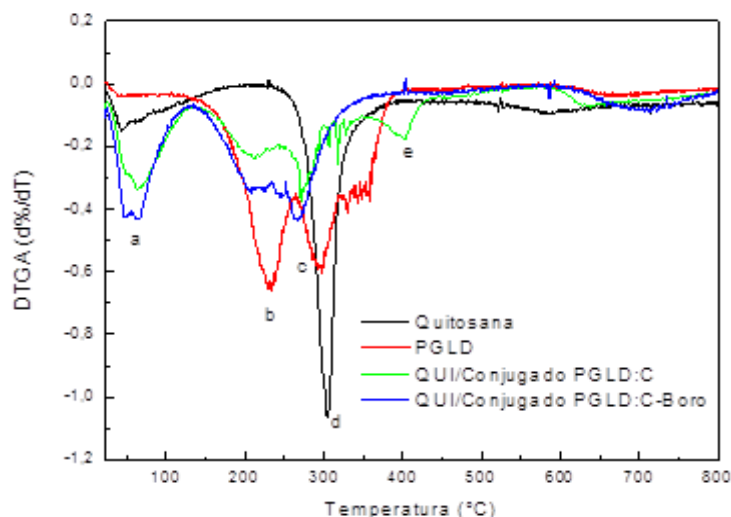


Figura 14 DTGA comparativo do dendrímero PGLD da quitosana e dos filmes conjugados de QUI-PGLDC e QUI-PGLDBC

Na Figura 13 e Figura 14 as diferentes etapas de degradação são destacadas. Em todas as amostras primeiramente acontece a perda de água “a”. Na Figura 13 observamos que o teor de água nas amostras aumenta na seguinte ordem $PGLD < Quitosana < Qui/PGLDC \cong Qui/PGLDCB$. Se observa que os filmes QUI- PGLDC e QUI-PGLDBC apresentam menor estabilidade térmica. A estabilidade térmica dos materiais poliméricos fornecem informação sobre sua estrutura conformacional e massa molecular [80]. A estabilidade térmica diminui na seguinte ordem $Quitosana > PGLD > Qui/PGLDC > Qui/PGLDCB$. Esse resultado é se esperado pois a quitosana é um polímero de alta massa molecular e forte interações intra e intermoleculares [81]. Portanto apresenta estabilidade térmica maior comparado ao dendrímero livre e ao conjugado, por apresentar maior massa molecular. Já as biomenbranas apresenta um perfil térmico semelhante ao do dendrímero livre, pelo fato da composição Qui/PGLD:C e Qui/PGLD:C-B ser 1:5.

Os filmes de quitosana com os conjugados seguem o perfil de degradação do dendrímero de PGLD. Em uma primeira etapa degradação acontece a perda que atribuímos aos grupos hidroxilas terminais “b”. Na segunda etapa de degradação “c” acontece simultaneamente a perda dos braços do dendrímero e a degradação da cadeia de quitosana. A degradação da cadeia principal de quitosana é destacada pela letra “d”. A degradação destacada pela letra “e” nos filmes dos conjugados, pode ser atribuída à degradação dos anéis benzênicos da curcumina. Todas as amostras apresentam um resíduo a 800°C, quitosana 22%, Qui/PGLD:C 15%, Qui/PGLD:C-Boro 9% e PGLD 3%. Enfim, os filmes apesar de apresentarem baixa estabilidade térmica comparada a quitosana, ainda sim torna um material viável, pois isso não interfere na sua aplicabilidade, onde a temperatura pode variar de 30 a 40°C [82], [83].

5.1.2 Caracterização por Espectroscopia no Infravermelho com Transformada de Fourier (FTIR)

Na Figura 15 e na Tabela 2 mostra comparativamente o espectro FTIR do PGLD, a curcumina e o conjugado formado entre ambas as substâncias. O espectro do PGLD mostra as bandas características desta macromolécula. A banda larga em 3330 cm^{-1} é característica das macromoléculas dendríticas, sistema arborescente que possui hidroxilas nas extremidades terminais [84]. Estas hidroxilas interagem entre si através de ligação de hidrogênio intra e intermolecular, diminuindo a força da ligação O-H e, portanto, deslocando está a menor número de onda. Outras bandas características do PGLD são as vibrações das ligações C-H, C-O-C e C-OH em 2931 cm^{-1} e 2874 cm^{-1} , 1113 cm^{-1} , 1035 cm^{-1} , respectivamente.

As bandas de vibração das ligações características do pó da curcumina têm sido relatada por vários pesquisadores [85], [86],[87]. As vibrações, mas importantes são destacadas no espectro da Figura 15 , destacamos a banda em 3508 cm^{-1} , relativa à vibração do estiramento da ligação O-H do OH livre, relativa ao fenol, seguida de uma banda larga em 3302 cm^{-1} de baixa intensidade relativa ao OH associado. A vibração da ligação C=C dos anéis benzênicos, que caracterizam a curcumina, permitiram identificar a presença dela no conjugado PGLDC, pela banda de vibração em 1647 cm^{-1} .

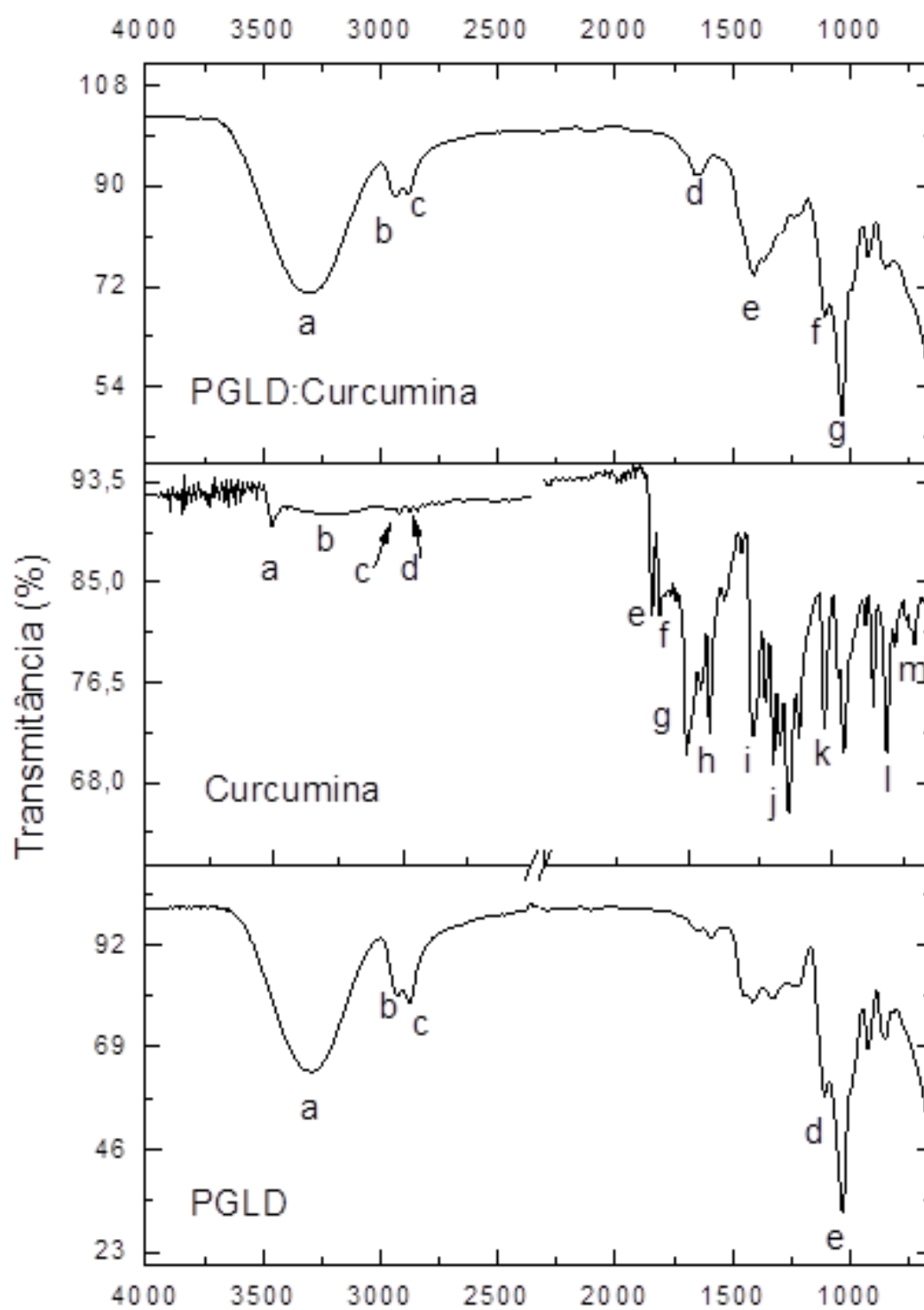
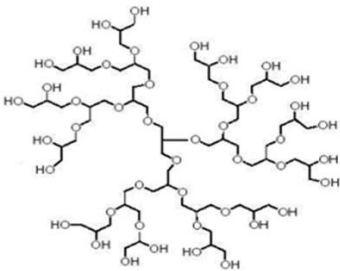
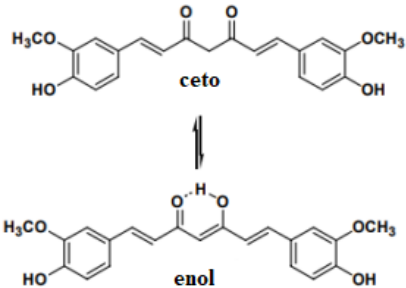


Figura 15 Espectros FTIR de PGLD, CC e, conjugado PGLDC

Tabela 2 Atribuição das principais bandas de vibração observadas nos espectros FTIR da Figura 15

Substância	Bandas de vibração no espectro FTIR
 PGLD	a → 3300 cm⁻¹ → banda larga → vibração de estiramento ligações O-H (associados) b → 2931 cm⁻¹ → vibração de estiramento (ν^s) da ligação C-H c → 2874 cm⁻¹ → vibração de estiramento (ν^{as}) da ligação C-H d → 1113 cm⁻¹ → vibração estiramento da ligação C-O-C e → 1035 cm⁻¹ → vibração estiramento da ligação C-O (H₂C-OH)
 Curcumina	a → 3508 cm⁻¹ → vibração de estiramento ligações O-H livre b → 3302 cm⁻¹ → vibração de estiramento ligações O-H associado c → 3014 cm⁻¹ → vibração de estiramento C-H (C (sp²)) d → 2972 cm⁻¹ → vibração de estiramento C-H e → 1629 cm⁻¹ } f → 1599 cm⁻¹ } Padrão fenilo, estiramento C=C do anel g → 1504 cm⁻¹ } h → 1421 cm⁻¹ → vibração da ligação =C-H i → 1274 cm⁻¹ → vibração da ligação =C(O-H) j → 1153 cm⁻¹ → vibração da ligação C-O-C k → 1024 cm⁻¹ → vibração da ligação C-O(H) l → 958 cm⁻¹ → vibração da ligação C-H (anel aromático) m → 708 cm⁻¹ → vibração da ligação C-H (anel aromático)
Conjugado PGLDC	a → 3304 cm⁻¹ → vibração de estiramento ligações O-H b → 2935 cm⁻¹ → vibração de estiramento (ν^s) C-H c → 2878 cm⁻¹ → vibração de estiramento (ν^{as}) C-H d → 1647 cm⁻¹ → estiramento de ligação C=C do anel e → 1402 cm⁻¹ → estiramento de ligação =C-H f → 1110 cm⁻¹ → vibração de estiramento C-O-C g → 1035 cm⁻¹ → vibração estiramento da ligação C-O (H₂C-OH)

A Figura 16 e Tabela 3 mostra o espectro FTIR do conjugado formado entre curcumina e o ácido bórico. O espectro FTIR mostra as bandas características do PGLD comentadas anteriormente, porém a diferença do espectro FTIR do conjugado PGLD:Curcumina as bandas que identificam a presença da curcumina aparecem a número de onda diferentes.

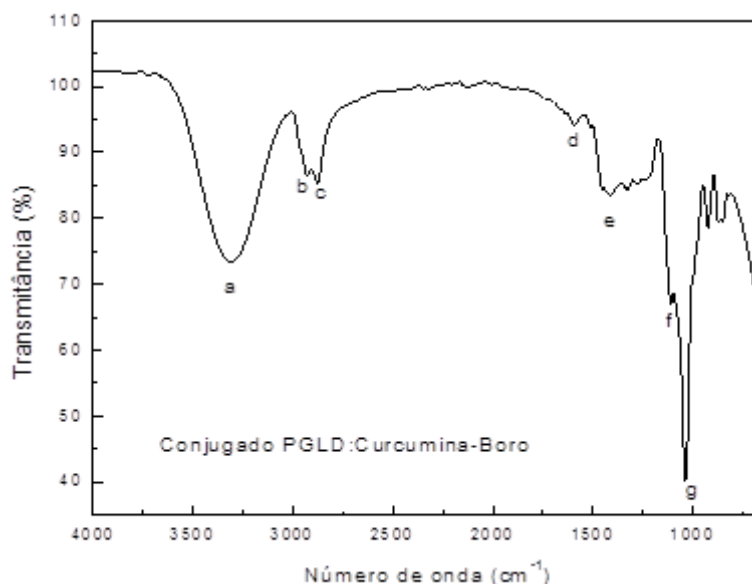
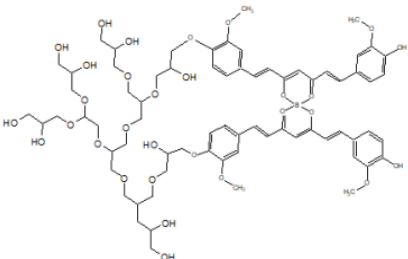


Figura 16 Espectro FTIR do conjugado PGLDBC

Tabela 3 Atribuição das principais bandas de vibração observadas no espectro FTIR da Figura 16

Substância	Bandas de vibração no espectro FTIR
 PGLD:Curcumina-Boro	a → 3308 cm ⁻¹ → vibração de estiramento ligações O-H
	b → 2933 cm ⁻¹ → vibração de estiramento (ν ^s) C-H
	c → 2877 cm ⁻¹ → vibração de estiramento (ν ^{as}) C-H
	d → 1591 cm ⁻¹ → estiramento de ligação C=C do anel
	e → 1419 cm ⁻¹ → estiramento de ligação =C-H
	f → 1107 cm ⁻¹ → vibração de estiramento C-O-C
	g → 1034 cm ⁻¹ → vibração estiramento da ligação C-O (H ₂ C-OH)

A banda de vibração de estiramento da ligação C=C do anel aromático da Curcumina que aparece no espectro FTIR do conjugado PGLDC em 1647 cm⁻¹ no espectro FTIR da Figura 16 aparece em 1591 cm⁻¹. Também a banda de vibração da ligação =C-H de carbono olefínico aparece em torno de 1419 cm⁻¹, a menor número de onda, o que sugere que a formação do complexo do boro com os oxigênios da forma “ceto” e “enol” da curcumina, enfraquecem a ligação C-H do carbono olefínico, observando-se a vibração desta ligação a menor número de

onda.

A Figura 17 mostra comparativamente o espectro FTIR da quitosana e dos filmes de quitosana contendo os conjugados PGLD:Curcumina e PGLD:Curcumina-Boro. As principais bandas dos espectros FTIR são resumidas na Tabela 4.

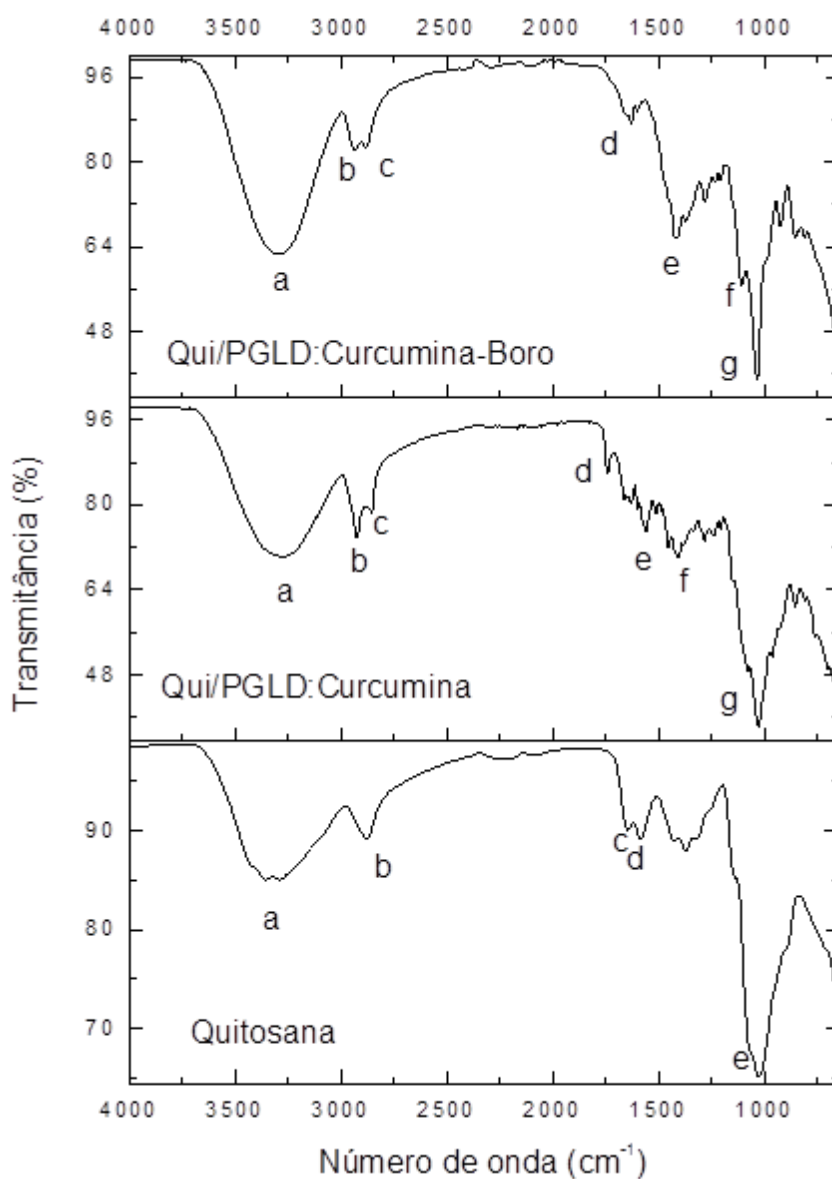
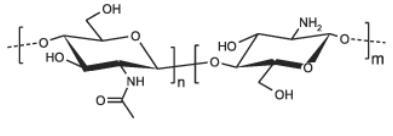


Figura 17 Espectro FTIR comparativo dos filmes de QUI e Qui-PGLDC e Qui-PGLDBC

Tabela 4 Atribuição das principais bandas de vibração observadas no espectro FTIR da Figura 17

Substância	Bandas de vibração no espectro FTIR
 Quitosana	a → 3326 cm⁻¹ banda larga → vibração de estiramento ligações O-H, N-H, NH₂ b → 2882 cm⁻¹ → vibração de estiramento da ligação, C-H, CH₂. c → 1653 cm⁻¹ banda Amida I → vibração da ligação C=O d → 1578 cm⁻¹ banda Amida II → vibração da ligação NH₂ e → 1027 cm⁻¹ → vibração estiramento da ligação C-O(H)
Qui-PGLDC	a → 3291 cm⁻¹ banda larga → vibração de estiramento ligações O-H, N-H, NH₂ b → 2923 cm⁻¹ vibração de estiramento (ν^s) da ligação, C-H c → 2852 cm⁻¹ → vibração de estiramento (ν^{as}) da ligação, C-H d → 1747 cm⁻¹ → vibração de ligação C=O e → 1569 cm⁻¹ → vibração da ligação C=C f → 1415 cm⁻¹ → vibração da ligação =C-H e → 1035 cm⁻¹ → vibração estiramento da ligação C-O(H)
Qui-PGLDBC	a → 3291 cm⁻¹ banda larga → vibração de estiramento ligações O-H, N-H, NH₂ b → 2935 cm⁻¹ → vibração de estiramento (ν^s) da ligação, C-H c → 2876 cm⁻¹ → vibração de estiramento (ν^{as}) da ligação, C-H d → 1640 cm⁻¹ → vibração da ligação C=C e → 1415 cm⁻¹ → vibração da ligação =C-H f → 1118 cm⁻¹ → vibração da ligação C-O-C g → 1022 cm⁻¹ → vibração da ligação C-O(H)

Da caracterização estrutural por FTIR dos filmes, podemos destacar, primeiramente que a banda de vibração da ligação O-H é mais estreita na mistura que no filme de quitosana. Para mostrar de forma mais explícita, normalizamos esta região do espectro, ver Figura 18. Na Figura 18 se observa que a banda da vibração da ligação O-H é mais larga na quitosana, mostrando que há mais associação das hidroxilas, devido à proximidade entre as cadeias. Nos

filmes da quitosana com os conjugados a presença destes e sua interação com as cadeias diminui a associação de hidroxila entre as cadeias de quitosana. O menor alargamento da banda de vibração O-H no filme QUI-PGLDBC sugere que neste filme a interação conjugado – quitosana é maior se comparado ao filme QUI-PGLDC.

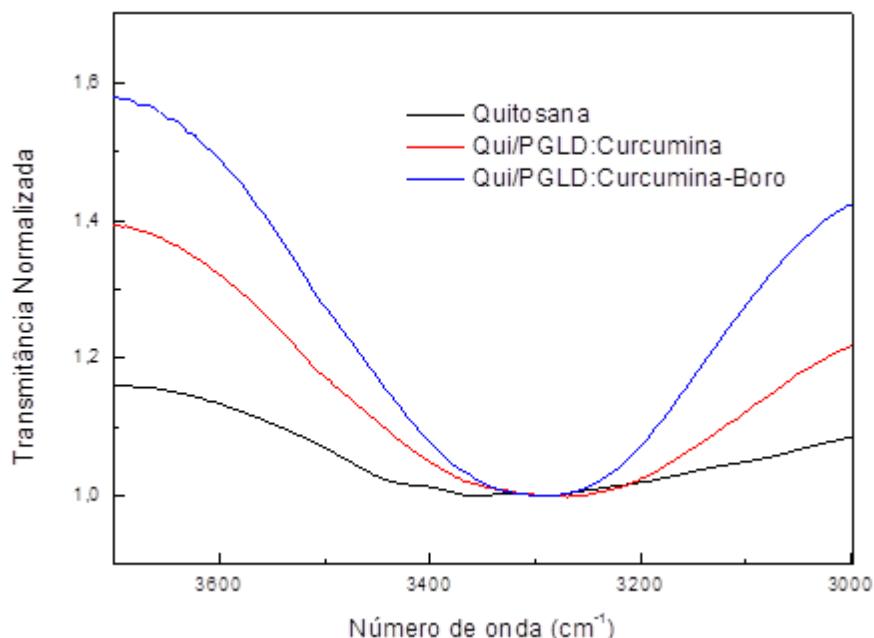


Figura 18 Espectro FTIR Normalizado comparando a banda de vibração hidroxila dos filmes de QUI e Qui-PGLDC e Qui-PGLDBC

Outra característica a destacar da análise dos espectros FTIR da Figura 17 é que nos filmes da quitosana com os conjugados não aparece a banda Amida I e Amida II. Destacando-se a banda que caracteriza o anel aromático da curcumina ($C=C$, em 1640 cm^{-1}) no espectro FTIR do filme QUI/PGLDC. Diferentemente, no espectro do filme QUI/PGLDBC a banda que se observa é a banda da ligação carbonila $C=O$, em 1744 cm^{-1} . Esta banda de vibração é característica da curcumina na forma “ceto” que a forma na qual se forma o complexo com o Boro. Este resultado confirma a presença do complexo Curcumina-Boro no conjugado com PGLD incorporado na quitosana.

5.1.3 Caracterização por Difração de Raios-X

A Figura 19 mostra comparativamente o difratograma de raios-X da curcumina e do filme de quitosana contendo o conjugado PGLDC. A quitosana é um copolímero constituído de segmentos estruturais de quitina e quitosana (quitina desacetilada). Segundo a literatura estes segmentos estruturais apresentam um padrão de difração correspondente a cinco reflexões

cristalinas na faixa 2θ de 5 a 40° . As de maior intensidade corresponde ao plano cristalográfico $[0\ 2\ 0]$ ($2\theta < 9^\circ$) e $[1\ 1\ 0]$ ($2\theta < 20^\circ$). Na medida que aumenta o grau de desacetilação a intensidade de ambos os picos diminui, se deslocando a maior ângulo (2θ). A intensidade do primeiro pico decresce consideravelmente e se aproxima a $2\theta \cong 9^\circ$. Já no segundo pico a intensidade diminui menos e se aproxima a $2\theta \cong 20^\circ$ [88].

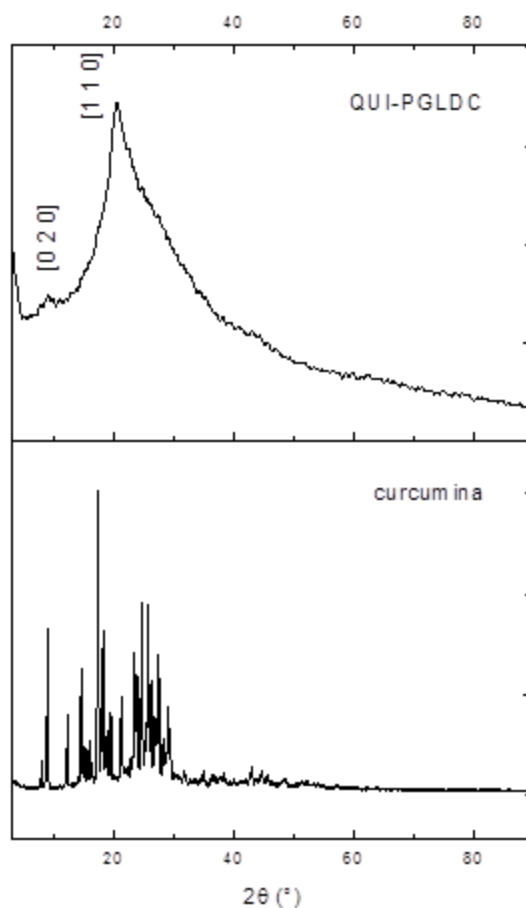


Figura 19 DRX da curcumina e o filme QUI-PGLDC

No difratograma de raios-X do filme QUI-PGLDC apresentado na Figura 19, observamos os picos de difração característicos da quitosana em 2θ igual a 9° e 20° correspondendo aos planos cristalográficos $[0\ 2\ 0]$ e $[1\ 1\ 0]$. O segundo pico apresenta um alargamento que atribuímos à presença do dendrímero de poliglicerol. Pois, se conhece da literatura que os polímeros hiper ramificados ou arborescentes são materiais amorfos [89].

A curcumina utilizada no estudo apresenta o padrão cristalino desta substância pura, mostrando os picos de reflexão na faixa de 2θ de 5° a 30° [90]. No difratograma do filme não se distingue o padrão cristalino da curcumina devido a que este componente está em menor

concentração e porque os ângulos de reflexão da curcumina estão na mesma faixa de difração da quitosana.

5.1.4 Caracterização por microscopia eletrônica de varredura (MEV)

Microscopia de Fluorescência (MF)

Conhecer a morfologia do filme de quitosana é importante já que ela está relacionada com propriedades importantes, tais como porosidade e compatibilidade entre a matriz e os conjugados. A Figura 20 (a) mostra a micrografia da superfície do filme de quitosana obtida por microscopia eletrônica de varredura (MEV). A micrografia mostra uma superfície densa, levemente ondulada, sem rachaduras ou porosidade, mostrando o mesmo padrão ao longo da imagem. A micrografia MEV da superfície de filmes de quitosana de elevada massa molar mostram um perfil semelhante ao observado [91].

A micrografia Figura 20 (b) corresponde ao filme contendo o PGLD, a imagem também se mostra regular observando-se uma superfície heterogênea de grandes agregados distribuídos na extensão do filme. O que sugere que o PGLD se dispersa completamente na matriz de quitosana formando aglomerados que se distribuem de forma regular ao longo da matriz.

Na micrografia Figura 20 (c), correspondente ao filme de quitosana contendo o conjugado PGLDC, se observa que o conjugado PGLDC forma estruturas irregulares, de dimensões nano e micro que se distribuem de forma regular em toda a extensão da superfície.

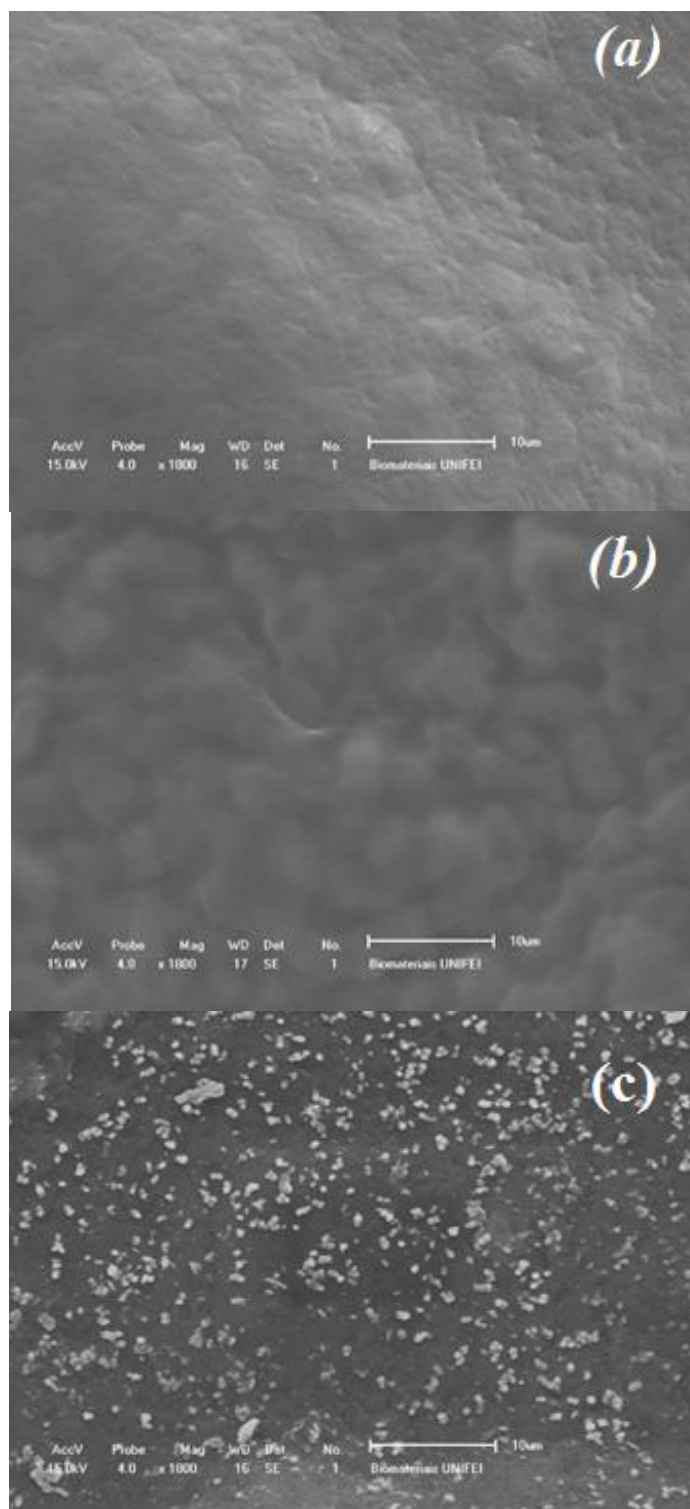


Figura 20 Micrografias das superfícies dos filmes (a) Qitosana, (b) Qui-PGLD (c) QUI-PGLDC

A microscopia de fluorescência foi utilizada para estudar as propriedades dos filmes. No filme QUI-PGLD obtivesse uma imagem escura (Figura 21), sem nenhuma emissão de luz, o que era esperado pelo fato destes materiais não apresentarem fluorescência.

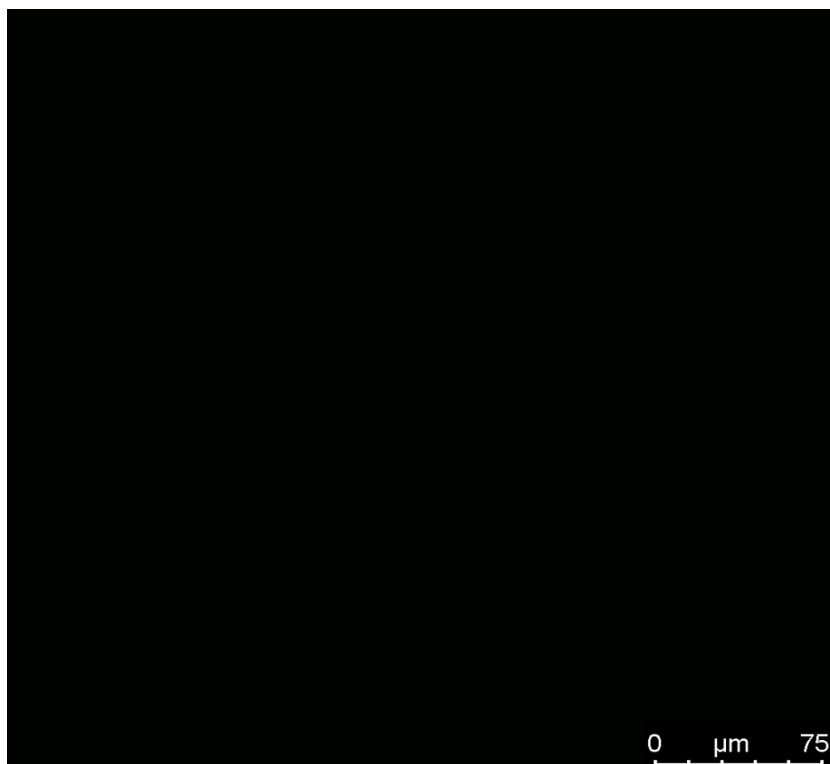


Figura 21 Micrografia de Fluorescência 20x (foco objetivo) do filme QUI-PGLD

A Figura 22 mostra a imagem do conjugado PGLDC com 63x4 (foco objetivo x aumento). Na imagem se observa a intensa emissão verde da curcumina[92]. A emissão de cor verde está distribuída no filme, confirmando que a incorporação da curcumina no PGLD é completa, formando um conjugado. Regiões de maior emissão, sinaladas na imagem com uma lupa, são regiões que caracterizam agregados de 2 a 4 μm de curcumina, podem ser atribuídas a curcumina livre. Já a pequena região escura observada na imagem, sugere PGLD não conjugado com curcumina.

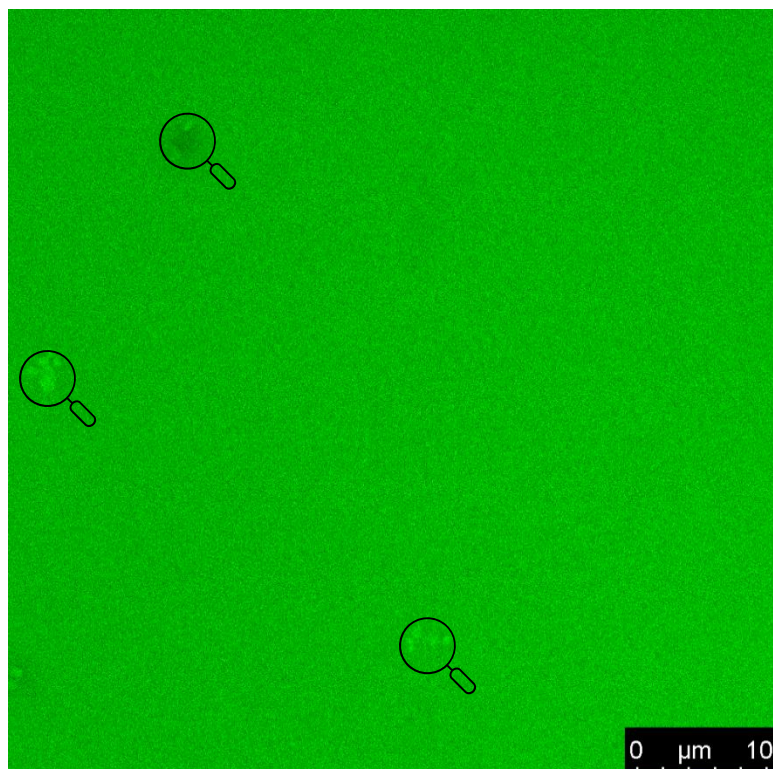


Figura 22 Micrografia de Fluorescência 63x4 (objetivo x ampliação) do conjugado PGLDC

A Figura 23 mostra a imagem de microscopia de fluorescência do conjugado PGLDBC. A imagem não é homogênea como a obtida para o conjugado PGLDC. Se observam regiões escuras, onde não há emissão fluorescente, atribuímos estas regiões ao polímero PGLD não conjugado. Porém, as regiões de maior emissão, que atribuímos à curcumina livre no PGLDC, são maiores (de 6 μm a 8 μm) no conjugado PGLDBC. Esperava-se agregados livres maiores no PGLBC, pois a curcumina está formando um complexo com o boro de razão estequiométrica 2:1.

A microscopia de fluorescência (MF) foi importante, pois confirmou que ambos conjugados, PGLDC e PGLDBC são fluorescentes. Por tanto, ambos podem ser utilizados na Terapia Fotodinâmica. As imagens de MF também revelaram uma maior concentração de curcumina livre no PGLDBC, formando agregados de maior tamanho.

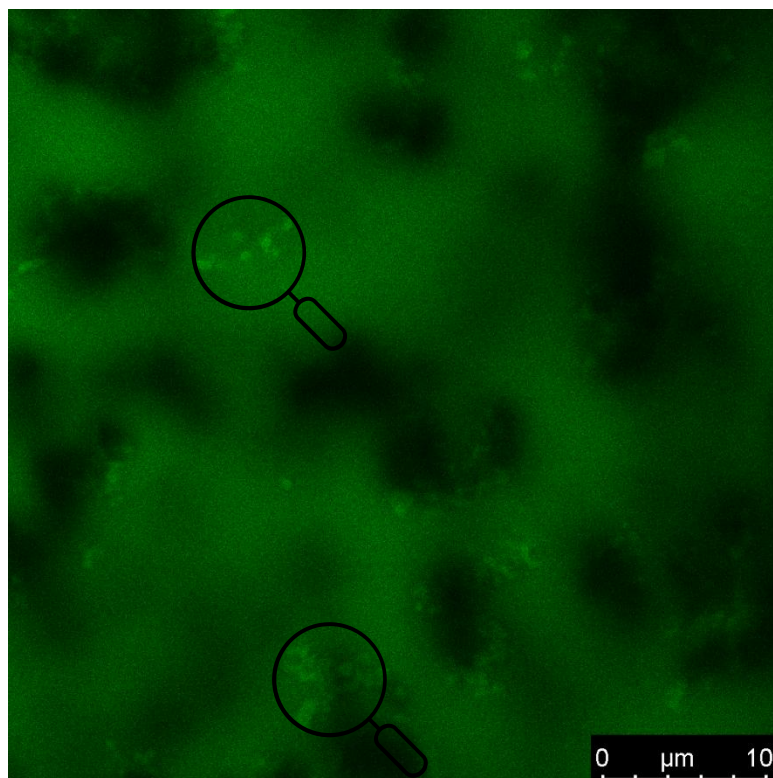


Figura 23 Micrografia de Fluorescência 63x4 (objetivo x ampliação) do conjugado PGLDBC

5.2 Estudo de Liberação “in vitro”

A curcumina apresenta escassa solubilidade em água [93]. Para que a curcumina seja absorvida e alcance uma biodistribuição no tecido biológico, exercendo sua ação terapêutica, precisa de um portador que exiba alta solubilidade em água. Dentre os portadores de fármacos, os dendrímeros de poliglicerol têm sido amplamente estudados devido a sua alta capacidade de transporte, biodegradabilidade, baixa toxicidade e biodistribuição [94].

Neste trabalho foi escolhido o dendrímero de poliglicerol (PGLD) como portador dos princípios ativos estudados, curcumina e curcumina-boro. Em ambos os sistemas os princípios ativos são encapsulados no interior do dendrímero, formados se um sistema macromolecular chamado de conjugado.

O estudo de liberação dos conjugados PGLDC e PGLDBC foi realizado em solução tampão de Fosfato e Salina-PBS (pH 7,4) e solução de ácido clorídrico (pH 2,0) nas temperaturas de 37°C e 40°C. A Figura 24 mostra a liberação dos dois sistemas estudados, em pH= 2,0 e pH= 7,4 ambos a 37°C.

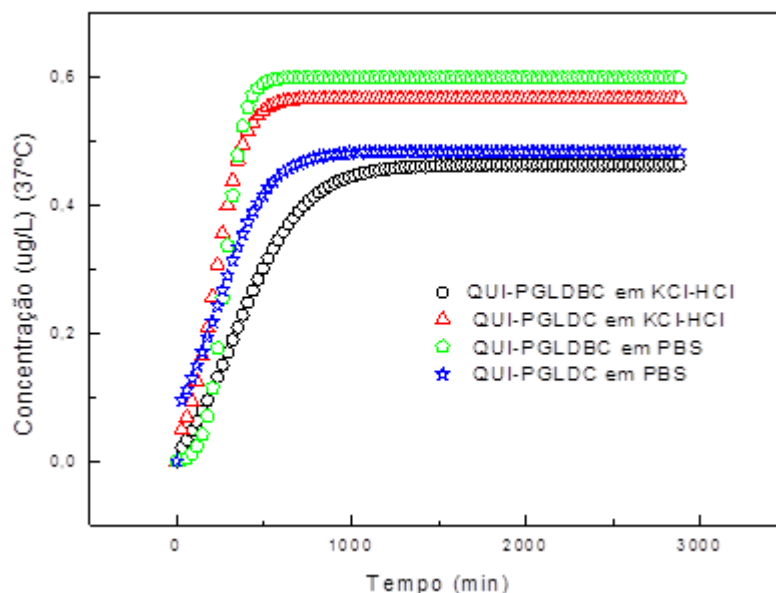


Figura 24 Estudo de liberação dos conjugados PGLDBC e PGLDC em pH=2,0 e pH=7,4 a 37°C

Na liberação a 37°C o perfil de liberação é semelhante em todos os sistemas. Porém, a concentração de equilíbrio é maior para o sistema PGLDC a pH=2 e em pH= 7,4 o sistema PGLDBC é o que alcança maior concentração de equilíbrio. A liberação do princípio ativo é influenciada por dois fatores, a natureza da matriz que o carrega e a afinidade do princípio pela matriz e pelo meio [95]. A literatura mostra que a matriz de quitosana libera um maior teor de princípio ativo a pH menor que 7 [96], [97]. O que é esperado que aconteça pois em meio de menor valor de pH a macromolécula se torna mais protonada, ficando estendida a conformação da cadeia. Isto explica o maior teor de conjugado PGLDC liberado a pH=2.

Estudos da literatura mostram que a liberação em diferentes pH, em sistemas de quitosana onde o princípio ativo se liga covalentemente à matriz, também mostraram maior liberação do fármaco a menores valores de pH[98]. O complexo boro:curcumina foi liberado em maior concentração em pH neutro, revelando a afinidade do conjugado PGLDBC com o meio a pH= 7,4.

A Figura 25 mostra o perfil de liberação dos dois sistemas estudados a pH=2 e pH=7,4 a 40°C. Diferentemente do esperado a liberação a 40°C atinge uma concentração no equilíbrio menor. Estudos mostram que a pH= 7 a quitosana apresenta uma transição de fase em torno de 30°C. Exibindo, portanto, uma baixa temperatura crítica de solução (LCST, do inglês lower critical solution temperature)[99]. Isto significa que a temperaturas abaixo do LCST (~ 30°C), o gel de quitosana é inchado, hidratado e hidrofílico, e acima dele, o gel fica colapsado, desidratado e hidrofóbico. Os resultados obtidos mostram o quanto a temperatura influencia nas interações intramoleculares, dificultando a liberação do princípio ativo. A maior concentração

no equilíbrio a 40°C foi para o sistema PGLDC a pH= 2, nos outros sistemas a concentração no equilíbrio é semelhante.

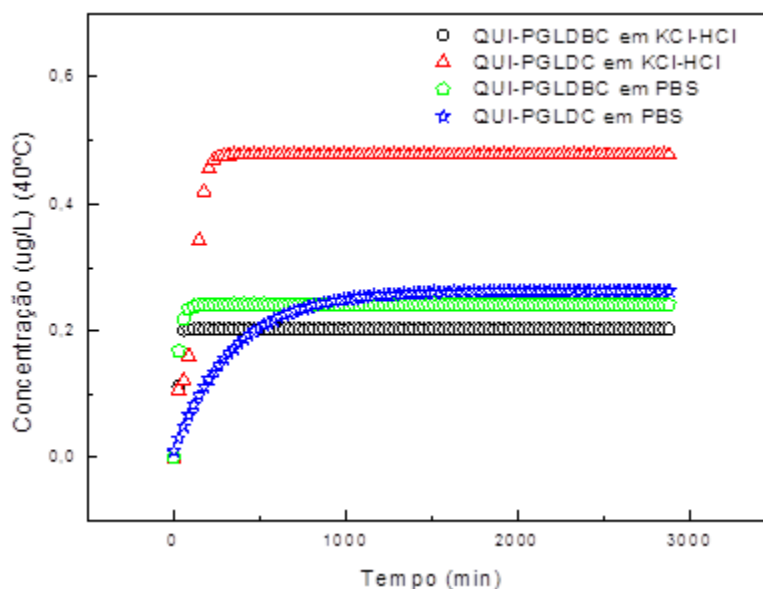


Figura 25 Estudo de liberação dos conjugados PGLDBC e PGLDC em pH=2,0 e pH=7,4 a 40°C

O perfil de liberação em todos os sistemas, em ambas as temperaturas e valores de pH, se caracteriza por uma liberação em dois estágios. Primeiramente acontece uma liberação abrupta, seguida de uma liberação constante. Este comportamento tem sido relatado na literatura para sistemas de liberação nos quais a matriz polimérica é quitosana [100], [101], [102], [103].

Na Figura 26 até a Figura 29, apresentam os sistemas de liberação mantendo constante o sistema e o meio de liberação, mudando-se apenas a temperatura. Pode ser observar de maneira geral que em todos os sistemas o aumento da temperatura acarretou uma diminuição da liberação. O sistema de menor diferença entre a temperatura e a concentração de equilíbrio é o sistema PGLDC.

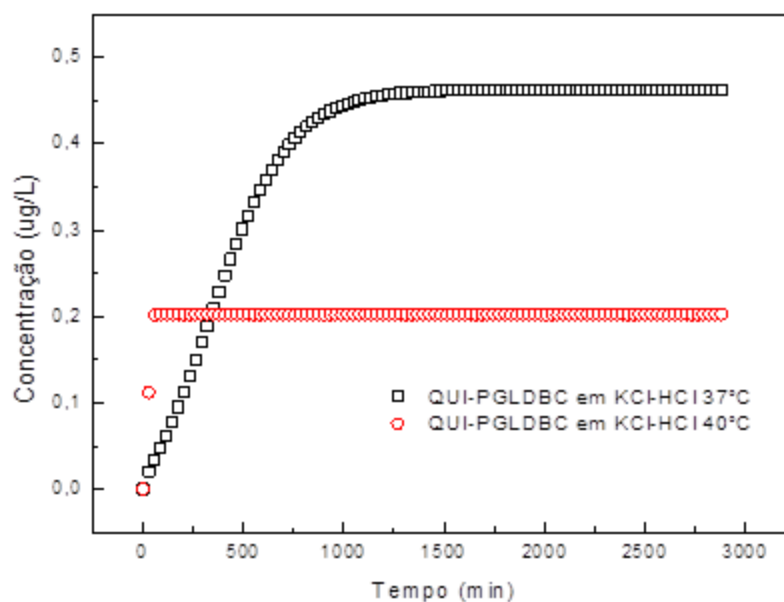


Figura 26 Estudo de liberação do conjugado PGLDBC em 37°C e 40°C a pH=2,0

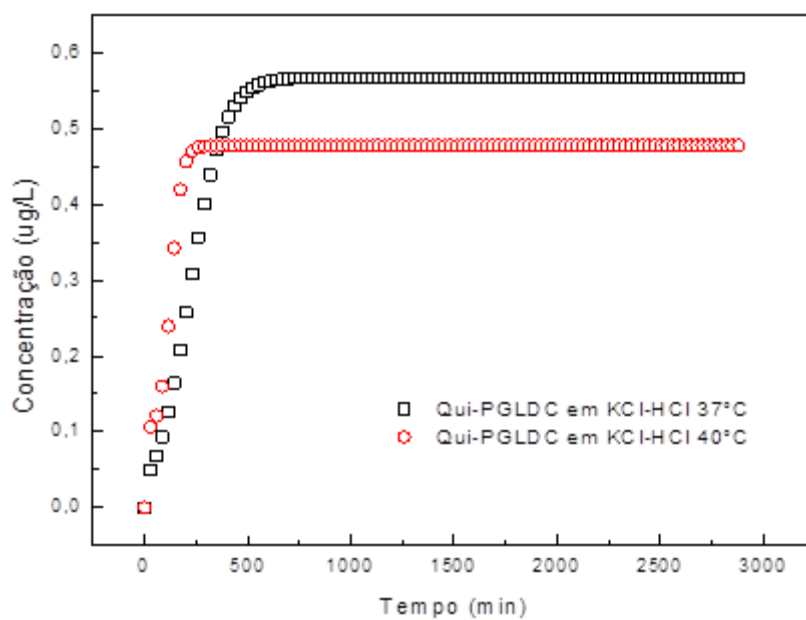


Figura 27 Estudo de liberação do conjugado PGLDC em 37°C e 40°C a pH=2,0

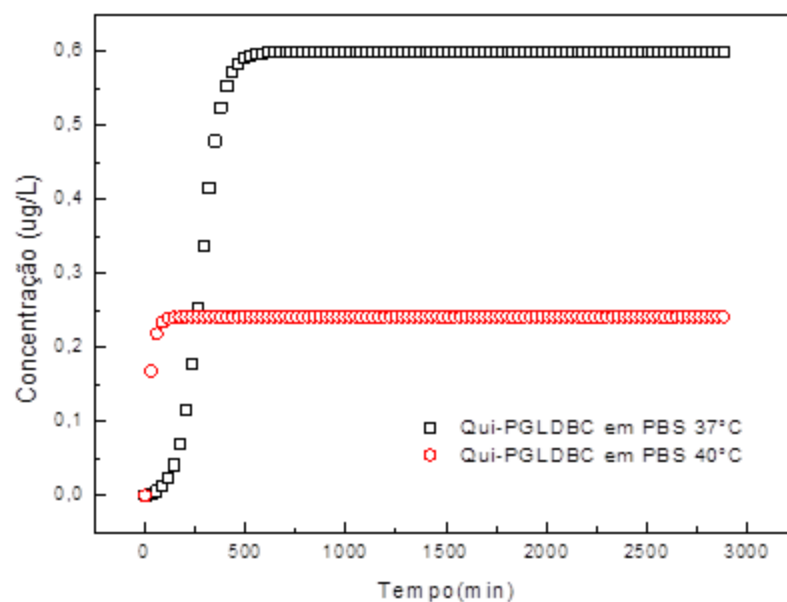


Figura 28 Estudo de liberação do conjugado PGLDBC em 37°C e 40°C a pH=7,4

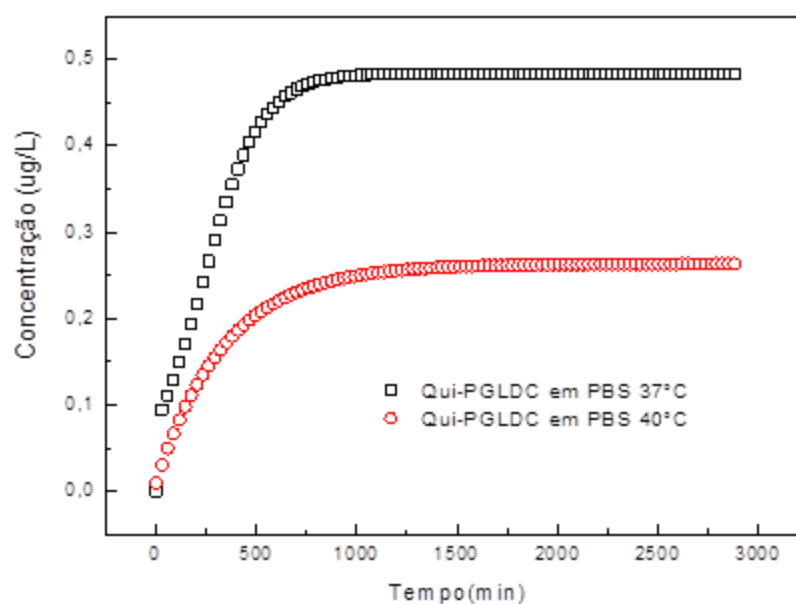
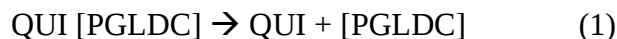


Figura 29 Estudo de liberação do conjugado PGLDC em 37°C e 40°C a pH= 7,4

Para estudar a cinética de liberação, representada na Eq.1, os dados experimentais foram ajustados à cinética de ordem zero (Eq.2), primeira ordem (Eq.3), Korsmeyer-Peppas (Eq.4), Higuchi (Eq.5) [104].



$$[\text{PGLDC}] = k_0 t + [\text{PGLDC}]_0 \quad (2)$$

$$\ln[\text{PGLDC}] = k_1 t + \ln[\text{PGLDC}]_0 \quad (3)$$

$$\frac{[\text{PGLDC}]_t}{[\text{PGLDC}]_\infty} = k_{KP} t^n \quad (4)$$

$$[\text{PGLDC}] = k_H t^{1/2} \quad (5)$$

Onde $[\text{PGLDC}]$ é a concentração do complexo liberado no tempo, determinado por UVvis, por meio da curva de calibração, $[\text{PGLDC}]_\infty$ é a concentração do complexo no equilíbrio, t o tempo, n é a constante do processo de difusão, k_0 , k_1 , k_{KP} , k_H , as constantes de velocidade das cinéticas de ordem zero, primeira, Korsmeyer-Peppas e Higuchi, respectivamente.

A Figura 30 mostra o ajuste dos dados à cinética de ordem zero, os dados cinéticos são resumidos na Tabela 5.

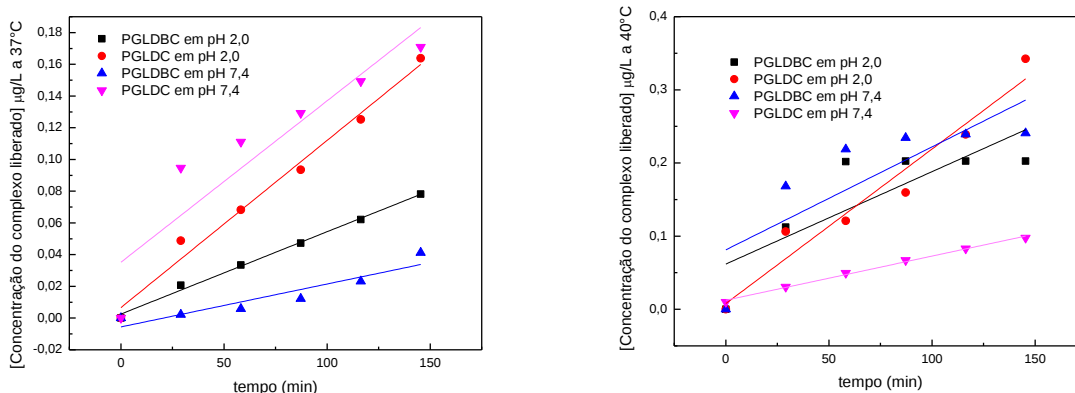
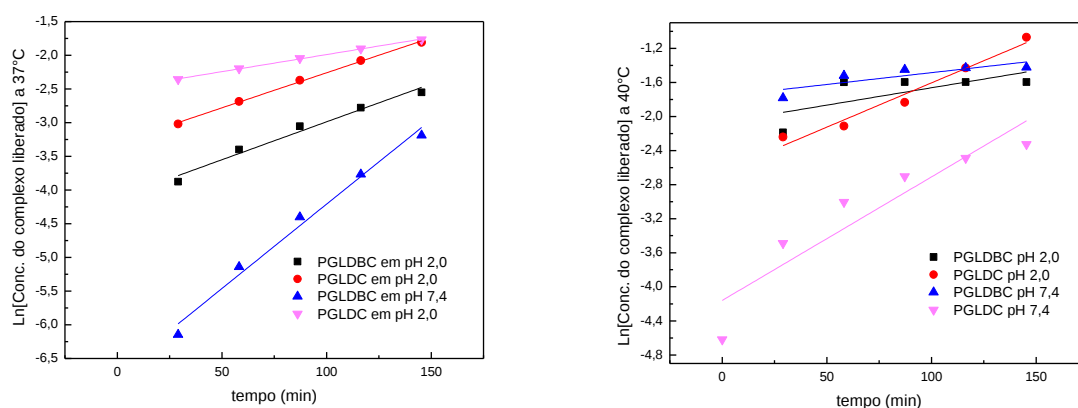


Figura 30 Ajuste dos dados cinéticos à ordem zero

Tabela 5 Dados cinético do ajuste dos dados à ordem zero

Temperatura	pH	Sistema	R ²	k ₀ (µg/L.min)
37°C	2,0	Qui-PGLDBC	0,9946	0,0005
		Qui-PGLDC	0,9824	0,0011
	7,4	Qui-PGLDBC	0,8513	0,0003
		Qui-PGLDC	0,8184	0,0010
40°C	2,0	Qui-PGLDBC	0,5963	0,0021
		Qui-PGLDC	0,9364	0,0021
	7,4	Qui-PGLDBC	0,5806	0,0014
		Qui-PGLDC	0,9952	0,0006

A Figura 31 mostra o ajuste dos dados à cinética de primeira ordem, os dados cinéticos são resumidos na Tabela 6.

**Figura 31** Ajuste dos dados cinéticos a primeira ordem**Tabela 6** Dados cinético do ajuste dos dados a primeira ordem

Temperatura	pH	Sistema	R ²	k ₁ (min ⁻¹)
37°C	2,0	Qui-PGLDBC	0,9705	0,0113
		Qui-PGLDC	0,9975	0,0104
	7,4	Qui-PGLDBC	0,9826	0,0251
		Qui-PGLDC	0,9986	0,0051
40°C	2,0	Qui-PGLDBC	0,3394	0,0041
		Qui-PGLDC	0,9598	0,0104
	7,4	Qui-PGLDBC	0,6206	0,0028
		Qui-PGLDC	0,8325	0,0145

A Figura 32 mostra o ajuste dos dados à cinética da equação de Korsmeyer-Peppas linearizada, os dados cinéticos são resumidos na Tabela 7.

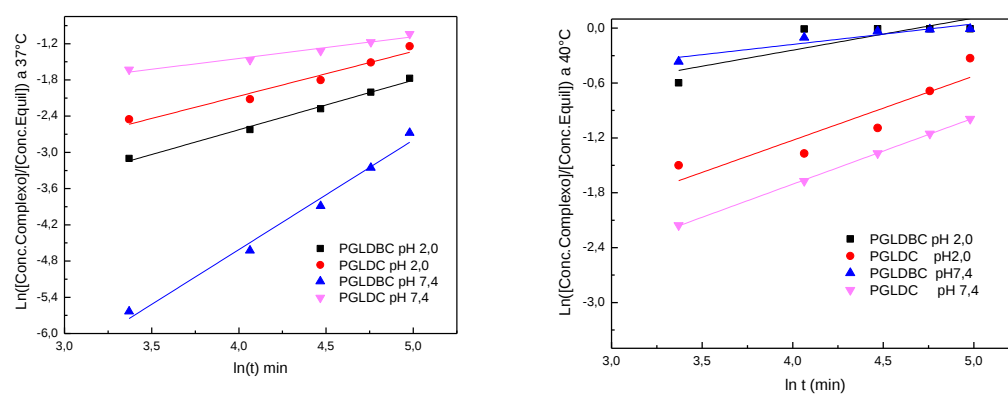


Figura 32 Ajuste dos dados cinéticos a Korsmeyer-Peppas

Tabela 7 Dados cinético do ajuste dos dados a Korsmeyer-Peppas

Temperatura	pH	Sistema	R ²	n	k _{KP}
37°C	2,0	Qui-PGLDBC	0,9907	0,8208	1,7763
		Qui-PGLDC	0,95203	0,7402	1,6152
	7,4	Qui-PGLDBC	0,9819	1,8134	2,4735
		Qui-PGLDC	0,9468	0,3601	1,0592
40°C	2,0	Qui-PGLDBC	0,6185	0,3510	0,4973
		Qui-PGLDC	0,7938	0,7023	1,3949
	7,4	Qui-PGLDBC	0,8568	0,2242	0,0717
		Qui-PGLDC	0,9996	0,7242	1,5266

A Figura 33 mostra o ajuste dos dados à cinética de Higuchi, os dados cinéticos são resumidos na Tabela 8.

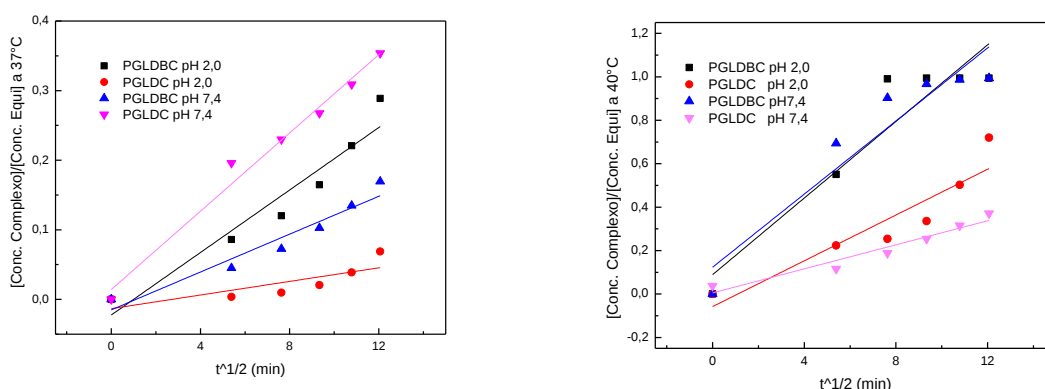


Figura 33 Ajuste dos dados cinéticos a Higuchi

Tabela 8 Dados cinético do ajuste dos dados a cinética de Higuchi

Temperatura	pH	Sistema	R ²	k _H
37°C	2,0	Qui-PGLDBC	0,9128	0,0224
		Qui-PGLDC	0,5815	0,0049
	7,4	Qui-PGLDBC	0,9216	0,0136
		Qui-PGLDC	0,9793	0,0281
40°C	2,0	Qui-PGLDBC	0,8594	0,0882
		Qui-PGLDC	0,8313	0,0527
	7,4	Qui-PGLDBC	0,8769	0,0841
		Qui-PGLDC	0,9268	0,0277

A partir do ajuste dos dados aos diferentes modelos cinéticos estudados, podemos concluir que o modelo de Korsmeyer-Peppas foi o que ajustou melhor, de maneira geral, todos os sistemas. Este resultado coincide com trabalhos anteriores onde se estuda a liberação de diferentes princípios ativos incorporados à matriz quitosana [105].

Pelo ajuste dos dados ao modelo de Korsmeyer-Peppas podemos determinar o mecanismo de liberação, a partir do valor do expoente n , como exposto a seguir:

- $n < 0,5$ Difusão Fickiana
- $0,5 < n < 1,0$ Difusão não Fickiana / Transporte anômalo

- $n > 1,0$ Transporte do tipo Caso II (erosão da matriz polimérica)

Pelos resultados obtidos tivemos um comportamento Fickiano nos seguintes sistemas: Qui-PGLDC (37°C) pH 7,4; Qui-PGLDBC (40°C) pH 2,0 e Qui-PGLDBC (40°C) pH 7,4. Portanto, os parâmetros cinéticos obtidos para estes sistemas indicam que a taxa de difusão é muito mais lenta do que a taxa de inchaço (maior relaxação das cadeias) da matriz polimérica e, portanto, a liberação foi controlada pelo mecanismo de difusão molecular.

A difusão teve um comportamento anômalo, não Fickiano, nos sistemas: Qui-PGLDBC (37°C) pH 2,0; Qui-PGLDC (37°C) pH 2,0; Qui-PGLDC (40°C) pH 2,0 e Qui-PGLDC (40°C) pH 7,4. A difusão não Fickiana ou anômala é aquela na qual a taxa de difusão e a taxa de inchaço da matriz são comparáveis. Portanto, existe uma superposição entre estes dois mecanismos e o sistema de liberação é complexo.

Apenas um sistema Qui-PGLDBC (37°C) pH 7,4 mostrou o transporte do tipo Super Tipo II relativo à erosão da matriz polimérica. Neste sistema o mecanismo de difusão é controlado pelo relaxamento da cadeia macromolecular. É dizer o relaxamento da cadeia, erosão ou degradação da matriz é quem determina a difusão.

Calculamos a constante de velocidade Korsmeyer-Peppas k_{KP} (Tabela 9) a partir dos expoentes determinados no ajuste dos dados, os valores encontrados correspondem ao valor médio de 5 concentrações do conjugado.

Tabela 9 Constante de velocidade Korsmeyer-Peppas

Temperatura	pH	Sistema	k_{KP}	Desv.Padrão
37°C	2,0	Qui-PGLDBC	0,0029	0,0001
		Qui-PGLDC	0,0078	0,0007
	7,4	Qui-PGLDBC	7,52E-06	9,15E-07
		Qui-PGLDC	0,0471	0,0025
40°C	2,0	Qui-PGLDBC	0,1576	0,0238
		Qui-PGLDC	0,0181	0,0034
	7,4	Qui-PGLDBC	0,3796	0,0195
		Qui-PGLDC	0,0111	0,0002

A constante de velocidade do processo de liberação k_{KP} é diretamente proporcional da constante de difusão e, portanto, depende das propriedades estruturais e físicas do complexo liberado e da matriz e quitosana. O sistema de maior constante de velocidade Qui-PGLDBC

40°C, pH 7,4; e o mais baixo foi exatamente o mesmo sistema a 37°C. Este resultado é bom porque as feridas infectadas apresentam altas temperaturas. A constante de velocidade de liberação k_{KP} para ambos os pH, segue um comportamento tipo Arrhenius, aumenta com o aumento da temperatura, com exceção do sistema Qui-PGLDC a pH 7,4.

Os valores da constante de velocidade de liberação k_{KP} obtidas no trabalho são semelhantes às encontradas no estudo de liberação do antibiótico vancomicina desde micropartículas de quitosana [106].

Diante destes resultados, podemos destacar que os materiais estudados são propícios para serem aplicados na ferida em ambos pH. Visto que em muitas bibliografias relatam a variação de pH como um fator importante para o processo de cicatrização. Pois a cicatrização de feridas ocorre de forma mais eficaz em pH ácido, deixando um microambiente de proteção contra microorganismos, como forma de barreira e melhor reparação. E assim explica a dificuldade ou demora para cicatrização em feridas crônicas que apresenta um ambiente alcalino [107].

5.3 Avaliação da atividade antimicrobiana *in vitro* da Curcumina e do PGLDBC e PGLDC

Como explicado na metodologia o teste utilizado para estudar a atividade antimicrobiana dos conjugados PGLDBC e PGLDC foi o método de disco-difusão. A atividade antimicrobiana é proporcional ao diâmetro do disco formado e, representa a ausência do crescimento da bactéria. Primeiramente, foi estudada a concentração mínima inibitória (CMI) concentração a partir da qual a substância apresenta atividade antimicrobiana. Para este estudo comparamos escolhemos a curcumina e o conjugado PGLDC. A curcumina não apresentou atividade antimicrobiana para nenhuma das concentrações estudadas. O que confirmou a importância do PGLD como carregador da curcumina. Os dados dos halos inibitórios do complexo PGLDC para as concentrações estudadas estão resumidos na Tabela 10, estes representam o valor médio de 3 medidas. No estudo foi usado como controle positivo o antibiótico cefalexina, sendo os valores do halo: $18,67 \pm 2,31$ para *E. coli* e $33,33 \pm 2,31$.

Tabela 10 dados dos halos inibitórios do complexo PGLDC.

Concentração $\mu\text{g/mL}$	Microrganismo	
	E. coli	S. aureus
10	-	$7,33 \pm 0,76$
25	-	$9,33 \pm 0,58$
50	-	$10,77 \pm 1,12$
100	-	$13,67 \pm 1,26$
200	-	$15,83 \pm 0,58$
400	-	$16,83 \pm 0,29$
500	$7,00 \pm 0,00$	$16,33 \pm 1,53$
700	$7,07 \pm 0,12$	$16,33 \pm 1,53$
1000	$9,00 \pm 1,00$	$18,33 \pm 0,58$
1250	$12,50 \pm 1,41$	$19,00 \pm 1,73$
1500	$12,67 \pm 2,31$	$18,67 \pm 0,58$
1750	$11,33 \pm 2,08$	$18,83 \pm 0,29$
2000	$11,33 \pm 1,53$	$18,17 \pm 2,36$

Segundo os resultados, mostrados na Tabela 10, podemos comprovar que a curcumina na forma do conjugado PGLDC inibe o crescimento de ambas as bactérias estudadas. Este resultado é importante porque estas bactérias atuam nas feridas inibindo o crescimento, a divisão celular e, portanto, a formação de biofilme. Uma ampla quantidade de artigos científicos confirma este resultado[108]. Os resultados obtidos também mostram que a inibição dos microorganismos é maior, quanto maior for a concentração de curcumina. Neste trabalho, sob as condições experimentais usadas, a CMI para o microorganismo E. coli é 500 $\mu\text{g/mL}$ e para S. aureus 10 $\mu\text{g/mL}$. Sendo, portanto, o complexo PGLDC mais efetivo no ataque ao microorganismo S. aureus. O maior efeito da curcumina contra o microorganismo S. aureus também é relatada na literatura[109].

Para o estudo da terapia fotodinâmica dos conjugados PGLDBC e PGLDC escolhemos duas concentrações a de 500 $\mu\text{g/mL}$ e 2000 $\mu\text{g/mL}$. As concentrações dos conjugados foram estudadas para os dois microorganismos sem Laser e, com Laser mudando o tempo de exposição. Os resultados do halo inibitório sem o efeito da radiação do laser são reportados na Tabela 11 e com laser na Tabela 12 .

Tabela 11 Halo inibitório sem laser.

Microorganismo	PGLDC		PGLDBC	
	500 µg/mL	2000 µg/mL	500 µg/mL	2000 µg/mL
E. coli	-	-		
S.aureus	7,54 ± 0,47	11,70 ± 0,40	7,03 ± 0,10	11,15 ± 0,12

Tabela 12 Halo inibitório com laser diferentes tempos

Micro	Tempo (min)	PGLDC		PGLDBC	
		500 µg/mL	2000 µg/mL	500 µg/mL	2000 µg/mL
E. coli	1	-	-	-	-
	7	-	-	-	-
S.aureus	1	8,55 ± 0,41	13,60 ± 0,32	7,18 ± 0,34	11,50 ± 0,16
	7	8,70 ± 0,11	13,88 ± 0,13	7,52 ± 0,21	11,78 ± 0,21

Neste estudo não foi observada atividade antimicrobiana contra a bactéria E.coli. Isto não quer dizer que os complexos não tenham ação antimicrobiana contra esta bactéria, pois foi mostrado sua atividade nos experimentos anteriores. Porém, o fato de ser experimentos realizados em datas diferentes as substâncias podem ter perdido sua atividade antimicrobiana para esta bactéria.

Os resultados obtidos nas Tabelas 11 e 12 acima confirmam a ação antimicrobiana dos complexos contra a S.aureus. Comprovando-se o aumento da atividade antimicrobiana promovido pelo uso do Laser. Confirmando o uso destes materiais para terapia fotodinâmica. Também podemos comprovar, que o aumento do tempo de radiação favoreceu a ação antibacteriana, obtendo-se um halo maior de inibição para 7 min. Este resultado está em acordo com o relatado na literatura[110].

6 CONCLUSÃO

A curcumina na forma dos conjugados PGLDBC e PGLDC mostrou atividade antimicrobiana contra a *S. aureus*, sendo esta atividade potencializada pela ação do Laser. Portanto, o objetivo principal da presente Tese de Doutorado foi alcançado. Permitindo concluir que ambos os sistemas, Qui-PGLDBC e Qui-PGLDC, estudados podem ser utilizados na terapia fotodinâmica, para tratamento de feridas cutâneas.

Para chegar no objetivo final, objetivos específicos foram atingidos durante o desenvolvimento da Tese de Doutorado. As conclusões destes objetivos são resumidas a seguir. A formação dos conjugados foi comprovada pela espectroscópica FTIR, por meio das bandas de vibração características de todas as substâncias estudadas. O FTIR também foi útil para comprovar a presença destes conjugados na matriz de quitosana. A análise da banda de vibração da ligação O-H nas biomembranas sugeriu que, a interação entre a quitosana e os conjugados foi maior no sistema Qui-PGLDBC.

A análise termogravimétrica foi útil para identificar o teor de umidade e os estágios e porcentagem de degradação dos materiais, conjugados e das biomembranas. Os conjugados mostraram um perfil semelhante de degradação. Já a biomembrana de quitosana perdeu estabilidade térmica quando foram incorporados os conjugados Qui-PGLDBC e Qui-PGLDC. Porém, isto não afeta a aplicação das biomembranas no uso como curativo cutâneo.

O difratograma de raios-X da biomembrana Qui-PGLDC mostrou o padrão cristalino da quitosana e a presença do PGLD, já os picos cristalinos da curcumina não foram observados.

A superfície do conjugado Qui-PGLDC observado no MEV mostrou que o conjugado se dispersa na quitosana e se distribui de forma regular ao longo da matriz. A microscopia de fluorescência confirmou que ambos conjugados, PGLDC e PGLDBC são fluorescentes. Portanto, ambos podem ser utilizados na terapia fotodinâmica.

O estudo de liberação de ambas biomembranas, Qui-PGLDBC e Qui-PGLDC, a diferentes pH (2 e 7,4) e duas temperaturas (37°C e 40°C) foi importante para concluir sobre a cinética e mecanismo de difusão dos conjugados. Ambos os sistemas estudados se caracterizam por dois estágios de liberação (uma liberação rápida no início, seguida de um estágio de liberação constante). A análise cinética do primeiro estágio de liberação mostrou que todos os sistemas se ajustaram melhor à cinética de Korsmeyer-Peppas. O que permitiu estudar o mecanismo de difusão, mostrando que este foi diverso, dependendo dos conjugados e dos

parâmetros pH e temperatura. O mecanismo teve uma difusão Fickiana preferentemente para o sistema Qui-PGLDBC a 40°C, em ambos os pH estudados. O sistema Qui-PGLDC só mostrou comportamento Fickiano a 37°C e pH 7,4. Respeito a constante de velocidade do processo de difusão k_{KP} , de maneira geral foi maior a 40°C. Sendo este comportamento importante para o tratamento de feridas infestadas.

Finalmente o estudo microbiológico, mostrou que os conjugados são efetivos para a bactéria *S. áureos*. Sendo a atividade antimicrobiana potencialmente ativada em ambos os conjugados, pela presença da radiação Laser estudada.

7 REFERÊNCIAS

- [1] R. Retratos, “Idosos indicam caminhos para uma melhor idade,” agência IBGE.
- [2] L. R. Ramos, “Fatores determinantes do envelhecimento saudável em idosos residentes em centro urbano : Projeto Epidoso , São Paulo Determinant factors for healthy aging among senior citizens in a large city : the Epidoso Project in São Paulo,” vol. 19, no. 3, pp. 793–798, 2003.
- [3] A. Padilha, “Envelhecimento faz gastos explodirem,” *Revista Senado - Em Discussão*.
- [4] M. C. De Sousa, T. Silva, and A. Monteiro, “Gastos relacionados a hospitalizações de idosos no Brasil : perspectivas de uma década Expenses related to hospital admissions for the elderly in Brazil : perspectives of a decade,” vol. 11, no. 34, pp. 514–520, 2013.
- [5] M. F. Khurshid, T. Hussain, R. Masood, and N. Hussain, “Development and evaluation of a controlled drug delivery wound dressing based on polymeric porous microspheres,” *J. Ind. Text.*, vol. 46, no. 3, pp. 986–999, 2016, doi: 10.1177/1528083715612231.
- [6] S. Anjum, A. Gupta, D. Sharma, D. Gautam, S. Bhan, and A. Sharma, “Development of novel wound care systems based on nanosilver nanohydrogels of polymethacrylic acid with Aloe vera and curcumin,” *Mater. Sci. Eng. C*, vol. 64, pp. 157–166, 2016, doi: 10.1016/j.msec.2016.03.069.
- [7] A. Adriano, A. Beatriz, D. A. Medeiros, M. Júlia, G. Oliveira, and S. Iii, “Avaliação e Tratamento de feridas: O conhecimento de acadêmicos de enfermagem,” *Rev. enferm. UERJ*, vol. 18, no. 4, pp. 547–552, 2010.
- [8] Y. Lin, J. Lin, and Y. Hong, “Development of chitosan / poly- g -glutamic acid / pluronic / curcumin nanoparticles in chitosan dressings for wound regeneration,” *J. Biomed. Mater.*, vol. 105B, no. 1, pp. 81–90, 2015, doi: 10.1002/jbm.b.33394.
- [9] T. Agarwal, R. Narayan, S. Maji, and S. Behera, “Gelatin / Carboxymethyl chitosan based scaffolds for dermal tissue engineering applications,” *Int. J. Biol. Macromol.*, vol. 93, pp. 1499–1506, 2016.
- [10] S. Jebahi *et al.*, “Effect of novel curcumin-encapsulated chitosan – bioglass drug on bone and skin repair after gamma radiation : experimental study on a Wistar rat model,” *cell Biochem. Funct.*, vol. 33, no. February 2014, pp. 150–159, 2015.

- [11] B. D. Fecchio, S. R. Valandro, M. G. Neumann, and C. C. S. Cavalheiro, "Thermal Decomposition of Polymer/Montmorillonite Nanocomposites Synthesized," *J. Braz. Chem. Soc.*, vol. 00, no. 00, pp. 1–7, 2015.
- [12] M.-H. Teiten, S. Eifes, M. Dicato, and M. Diederich, "Curcumin — The Paradigm of a Multi-Target Natural Compound with Applications in Cancer Prevention and Treatment," *Toxins (Basel)*, vol. 2, no. 1, pp. 128–162, 2010, doi: 10.3390/toxins2010128.
- [13] A. R. Nunes, "Liberação Controlada de Curcumina Ancorada em Sílica Hexagonal Mesoporosa Liberação Controlada de Curcumina Ancorada em Sílica Hexagonal," Universidade de Brasília, 2013.
- [14] H. A. Kurwa and R. J. Barlow, "The role of photodynamic therapy in dermatology," *Clin. Exp. Dermatol.*, vol. 24, no. 3, pp. 143–148, 1999.
- [15] K. Kalka, H. Merk, and H. Mukhtar, "Photodynamic therapy in dermatology," *J. Am. Acad. Dermatol.*, vol. 42, no. 3, pp. 389–413, 2000.
- [16] S. Najafi *et al.*, "An In Vitro Comparison of Antimicrobial Effects of Curcumin-Based Photodynamic Therapy and Chlorhexidine, on *Aggregatibacter actinomycetemcomitans*," *J. Lasers Med. Sci.*, vol. 7, no. 1, pp. 21–25, 2016, doi: 10.15171/jlms.2016.05.
- [17] K. Khorsandi and R. Fekrazad, "Low-dose photodynamic therapy effect on closure of scratch wounds of normal and diabetic fibroblast cells : An in vitro study," *J. Biophotonics*, no. April, pp. 1–14, 2021, doi: 10.1002/jbio.202100005.
- [18] B. A. E. A. A. Delmore, "Pressure Injuries Caused by Medical Devices and Other Objects : A Clinical Update," *AJN*, vol. 117, no. 12, p. 10, 2017.
- [19] L. Pereira *et al.*, "Application of photodynamic therapy , laser therapy , and a cellulose membrane for calcaneal pressure ulcer treatment in a diabetic patient : A case report," *Photodiagnosis Photodyn. Ther.*, vol. 19, no. October 2016, pp. 235–238, 2017.
- [20] R. Factors, F. O. R. Pressure, and I. Among, "Risk factors for pressure injuries among critical care patients: A systematic review," *Int J Nurs Stud*, vol. 71, pp. 97–114, 2018, doi: 10.1016/j.ijnurstu.2017.03.012.RISK.
- [21] Glenda Agra, "Principais áreas de risco para lesões por pressão.," ResearchGate.
- [22] S. A. Kayser, C. A. Vangilder, E. A. Ayello, and C. Lachenbruch, "Prevalence and Analysis of Medical Device-Related Pressure Injuries : Results from the

- International Pressure Ulcer Prevalence Survey,” *Adv Ski. Wound Care*, vol. 31, no. 6, pp. 276–285, 2018.
- [23] K. Shanmugapriya, H. Kim, and H. Wook, “Fucoidan-loaded hydrogels facilitates wound healing using photodynamic therapy by in vitro and in vivo evaluation,” *Carbohydr. Polym.*, vol. 247, no. July, p. 13, 2020.
- [24] C. Santezi, B. D. Reina, and L. N. Dovigo, “Curcumin-mediated Photodynamic Therapy for the treatment of oral infections — A review,” *Photodiagnosis Photodyn. Ther.*, vol. 21, no. October 2017, pp. 409–415, 2018.
- [25] V. Ambrogi *et al.*, “Montmorillonite – chitosan – chlorhexidine composite films with antibiofilm activity and improved cytotoxicity for wound dressing,” *J. Colloid Interface Sci.*, vol. 491, pp. 265–272, 2017.
- [26] V. Gaissler *et al.*, “The effects of Brazilian chitosan-based biomaterials on wound healing in rats,” *Tissue Cell*, vol. 69, no. December 2020, p. 8, 2021.
- [27] J. Miguel, A. José, N. Sousa, J. Filipe, and R. Luís, “Dendrimers and derivatives as a potential therapeutic tool in regenerative medicine strategies — A review,” *Prog. Polym. Sci.*, vol. 35, pp. 1163–1194, 2010, doi: 10.1016/j.progpolymsci.2010.04.006.
- [28] G. M. Dykes, “Dendrimers: a review of their appeal and applications †‡,” *J. Chem. Technol. Biotechnol.*, vol. 918, no. May, pp. 1–16, 2001, doi: 10.1002/jctb.464.
- [29] P. E. Froehling, “Dendrimers and dyes - a review,” *Dye. Pigment.*, vol. 48, no. 3, pp. 187–195, 2001.
- [30] A. A. Chis *et al.*, “Applications and Limitations of Dendrimers in Biomedicine,” *Molecules*, vol. 25, no. 17, p. 41, 2020, doi: 10.3390/molecules25173982.
- [31] Z. Mhlwatika and B. A. Aderibigbe, “Application of Dendrimers for the Treatment of Infectious Diseases,” *Molecules*, vol. 23, no. 09, p. 32, 2018, doi: 10.3390/molecules23092205.
- [32] P. Abdel-sayed, A. Kaeppli, T. Siriwardena, T. Darbre, and K. Perron, “Anti-Microbial Dendrimers against Multidrug-Resistant *P. aeruginosa* Enhance the Angiogenic Effect of Biological Burn-wound Bandages,” *Sci. Rep.*, vol. 6, no. November 2015, pp. 1–10, 2016, doi: 10.1038/srep22020.
- [33] H. I. Bharat B Aggarwal, Chitra Sundaram, Nikita Malani, “Curcumin: the Indian solid gold,” *The Molecular Targets and Therapeutic Uses of Curcumin in Health and Disease*, pp. 1–75, 2007. doi: 10.1007/978-0-387-46401-5_1.

- [34] R. Sandhir, A. Yadav, A. Sunkaria, and N. Singhal, "Nano-antioxidants: An emerging strategy for intervention against neurodegenerative conditions," *Neurochem. Int.*, vol. 89, pp. 209–226, 2015, doi: 10.1016/j.neuint.2015.08.011.
- [35] S. Prasad and B. B. Aggarwal, "Recent Developments in Delivery , Bioavailability , Absorption and Metabolism of Curcumin : the Golden Pigment from Golden Spice," *Cancer Res Treat.*, vol. 46, no. 1, pp. 2–18, 2014.
- [36] S. Zorofchian Moghadamtousi *et al.*, "Modulation of arachidonic acid metabolism by curcumin and related β -diketone derivatives: Effects on cytosolic phospholipase A2, cyclooxygenases and 5-lipoxygenase," *Eur. J. Med. Chem.*, vol. 12, no. 9, pp. 347–364, 2023, doi: 10.3390/antiox12091725.
- [37] S. Kaur, N. H. Modi, D. Panda, and N. Roy, "Probing the binding site of curcumin in Escherichia coli and Bacillus subtilis FtsZ - A structural insight to unveil antibacterial activity of curcumin," *Eur. J. Med. Chem.*, vol. 45, no. 9, pp. 4209–4214, 2010, doi: 10.1016/j.ejmech.2010.06.015.
- [38] D. Rai, J. K. Singh, N. Roy, and D. Panda, "Curcumin inhibits FtsZ assembly: an attractive mechanism for its antibacterial activity," *Biochem. J.*, vol. 410, no. 1, pp. 147–155, Jan. 2008, doi: 10.1042/BJ20070891.
- [39] S. Zorofchian Moghadamtousi, H. Abdul Kadir, P. Hassandarvish, H. Tajik, S. Abubakar, and K. Zandi, "A review on antibacterial, antiviral, and antifungal activity of curcumin," *Biomed Res. Int.*, vol. 2014, p. 12, 2014, doi: 10.1155/2014/186864.
- [40] A. Wolnicka-Glubisz and A. Wisniewska-Becker, "Dual Action of Curcumin as an Anti- and Pro-Oxidant from a Biophysical Perspective," *Antioxidants*, vol. 12, no. 9, pp. 1–18, 2023, doi: 10.3390/antiox12091725.
- [41] A. Wolnicka-Glubisz, M. Olchawa, M. Duda, P. Pabisz, and A. Wisniewska-Becker, "The Role of Singlet Oxygen in Photoreactivity and Phototoxicity of Curcumin," *Photochem. Photobiol.*, vol. 99, no. 1, pp. 57–67, 2023, doi: 10.1111/php.13666.
- [42] M. E. M. G. e V. S. B. Natália Costa Araújo , Carla Raquel Fontana, "Overall-Mouth Disinfection by Photodynamic.pdf," *Photomed. Laser Surg.*, vol. 30, no. 2, pp. 1–6, 2012, [Online]. Available: <https://www.liebertpub.com/doi/10.1089/pho.2011.3053>
- [43] H. Abrahamse and M. R. Hamblin, "New photosensitizers for photodynamic therapy," *Biochem. J.*, vol. 473, no. 4, pp. 347–364, 2016, doi:

10.1042/BJ20150942.

- [44] M. C. Y. Heng, "Topical Curcumin: A Review of Mechanisms and uses in Dermatology," *Int. J. Dermatology Clin. Res.*, vol. 3, no. 1, pp. 10–17, 2017.
- [45] Y. Liu and K. Lee, "Modifications of the curcumin method enabling precise and accurate measurement of seawater boron concentration," *Mar. Chem.*, vol. 115, no. June, pp. 110–117, 2009.
- [46] J. Y. Kim, Y. Y. Kang, E. J. Kim, J. H. Ahn, and H. Mok, "Effects of curcumin-/boron-based compound complexation on antioxidant and antiproliferation activity," *Appl. Biol. Chem.*, vol. 61, no. 4, pp. 403–408, 2018, doi: 10.1007/s13765-018-0374-4.
- [47] I. R. Scorei, A. Biță, and G. Dan Mogoșanu, "Boron enhances the antiviral activity of the curcumin against SARS-CoV-2," *Rom. J. Morphol. Embryol.*, vol. 61, no. 3, pp. 967–970, 2020, doi: 10.47162/RJME.61.3.39.
- [48] G. S. Pegorin *et al.*, "Physico-chemical characterization and tissue healing changes by Hancornia speciosa Gomes latex biomembrane," *J. Biomed. Mater. Res. - Part B Appl. Biomater.*, vol. 109, no. 7, pp. 938–948, 2021, doi: 10.1002/jbm.b.34758.
- [49] D. M. L. Oliveira *et al.*, "Double membrane based on lidocaine-coated polymyxin-alginate nanoparticles for wound healing: In vitro characterization and in vivo tissue repair," *Int. J. Pharm.*, vol. 591, no. August, p. 120001, 2020, doi: 10.1016/j.ijpharm.2020.120001.
- [50] M. M. Rana *et al.*, "Amnion and collagen-based blended hydrogel improves burn healing efficacy on a rat skin wound model in the presence of wound dressing biomembrane," *Biomed. Mater. Eng.*, vol. 31, no. 1, pp. 1–17, 2020, doi: 10.3233/BME-201076.
- [51] L. G. Renqiang Yuan, Ning Yang, Yueru Huang, Weikun Li, Yi Zeng, Zonghao Liu, Xin Tan, Fang Feng, Qianli Zhang, Shao Su, Cuilin Chu, Ling Liu, "Layer-by-Layer Microneedle-Mediated rhEGF Transdermal Delivery for Enhanced Wound Epidermal Regeneration and Angiogenesis," *ACS Appl. Mater. Interfaces*, vol. 15, no. 1, pp. 21929–21940, 2023, [Online]. Available: http://scioteca.caf.com/bitstream/handle/123456789/1091/RED2017-Eng-8ene.pdf?sequence=12&isAllowed=y%0Ahttp://dx.doi.org/10.1016/j.regsciurbe.co.2008.06.005%0Ahttps://www.researchgate.net/publication/305320484_SISTEM_PEMBETUNGAN_TERPUSAT_STRATEGI_MELESTARI

- [52] Y. Chen *et al.*, "Preparation, property of the complex of carboxymethyl chitosan grafted copolymer with iodine and application of it in cervical antibacterial biomembrane," *Mater. Sci. Eng. C*, vol. 67, pp. 247–258, 2016, doi: 10.1016/j.msec.2016.05.027.
- [53] A. S. Rajesh, E. Koshi, K. Philip, and A. Mohan, "Antimicrobial photodynamic therapy : An overview," *J. Indian Soc. Periodontol.*, vol. 15, no. 4, p. 6, 2011.
- [54] D. P. ARANTES, "Eficiência da Ação Fotodinâmica em Mycobacterium massiliense DEPARTAMENTO DE MORFOLOGIA E PATOLOGIA – DMP Eficiência da Ação Fotodinâmica em Mycobacterium massiliense," Universidade Federal de São Carlos, 2012.
- [55] B. X. Y. Feng and Y. Wu, "Antimicrobial photodynamic therapy in skin wound healing : A systematic review of animal studies," *Int. Wound J.*, vol. 17, no. October 2019, pp. 285–299, 2020, doi: 10.1111/iwj.13269.
- [56] C. M. Lopes, J. Manuel, S. Lobo, and P. Costa, "Formas farmacêuticas de liberação modificada : polímeros hidrofílicos," *Rev. Bras. Ciências Farm.*, vol. 41, no. 2, pp. 143–154, 2005.
- [57] C. D. Nicoletti, A. Paula, and Z. Frasson, "Formas de liberação controlada:," *Rev. Context. Saúde*, vol. 5, no. 10, pp. 65–74, 2006.
- [58] L. V Allen, N. G. Popovich, and H. C. Ansel, *Pharmaceutical Dosage Forms and Drug Delivery Systems*, 9th ed. Baltimore: Williams & Wilkins, 2011.
- [59] D. G. Kanjickal and S. T. Lopina, "Modeling of Drug Release from Polymeric Delivery Systems — A Review," *Crit. Rev. Ther. Drug Carrier Syst.*, vol. 21, no. 5, pp. 345–386, 2004.
- [60] L. L. Lao, N. a Peppas, F. Y. C. Boey, and S. S. Venkatraman, "Modeling of drug release from bulk-degrading polymers.," *Int. J. Pharm.*, vol. 418, no. 1, pp. 28–41, Oct. 2011, doi: 10.1016/j.ijpharm.2010.12.020.
- [61] R. M. Moura, "Avaliação do potencial citotóxico e antitumoral do dendrímero de pliglicerol salicildo em diferentes linhagens celulares.," Uiversidade Federal de Itajubá, 2011.
- [62] Alexandro da Silva Nunes, "Dendrímero de Poliglicerol Carregado com Complexo de Boro/Curcumina Combinando Anti-Angiogênese e BNCT Com Potencial para Utilização no Tratamento do Câncer.," UNIVERSIDADE FEDERAL DE ITAJUBÁ, 2019.
- [63] M. . G. Ionashiro, *Fundamentos da Termogravimetria e Análise Térmica*

- Diferencial e Calorimetria Exploratória Diferencial*. São Paulo: Giz Editorial, 2005.
- [64] R. Morrison, R., Boyd, “Química Orgânica,” 15th ed., Lisboa: Fundação Calouste Gulbenkian, 2009, ch. 16, p. 559.
- [65] M. Custodio, M. Ferreira, and O. H. Gonçalves, “Caracterização de materiais poliméricos através da técnica de FTIR na região do infravermelho médio,” in *Congresso Científico da Região Centro-Ocidental do Paraná / Centro Universitário Integrado de Campo Mourão.*, 2016, pp. 2–3. doi: 10.13140 / RG.2.2.32604.18561.
- [66] W. D. CALLISTER JUNIOR., *Ciência e engenharia de materiais: uma introdução*, 7th ed. Rio de Janeiro: LTC, 2008.
- [67] B. A. Dedavid, C. I. Gomes, and G. Machado, “Microscopia eletrônica de varredura: aplicações e preparação de amostras: materiais poliméricos, metálicos e semicondutores,” CEMM - Centro de Microscopia e Microanálises do IDÉIAPUCRS - Instituto de Pesquisa e Desenvolvimento. Accessed: Dec. 16, 2015. [Online]. Available: <http://www.pucrs.br/edipucrs/online/microscopia.pdf>
- [68] P. Iii, “The Principles of X-ray Brraction,” in *International Union of CRYSTALLOGRAPHY.*, 1999, ch. 6, pp. 80–101.
- [69] U. Federal, D. O. Maranh, C. D. E. Ci, N. Exatas, and T. C. D. E. Qu, “Microscopia Eletrônica de Varredura : potencialidades e aplicações Microscopia Eletrônica de Varredura : potencialidades e aplicações,” 2016.
- [70] H. Schneckenburger, “Total internal reflection fluorescence microscopy: Technical innovations and novel applications,” *Curr. Opin. Biotechnol.*, vol. 16, no. 1 SPEC. ISS., pp. 13–18, 2005, doi: 10.1016/j.copbio.2004.12.004.
- [71] Asiva Noor Rachmayani, “MICROSCOPIA DE FLUORESCÊNCIA.” [Online]. Available: [https://edisciplinas.usp.br/pluginfile.php/8320753/mod_resource/content/1/Seminário Microscopia II - Microscopia de fluorescência.pdf](https://edisciplinas.usp.br/pluginfile.php/8320753/mod_resource/content/1/Seminário_Microscopia_II_-_Microscopia_de_fluorescência.pdf)
- [72] X. Yuan, S. Dong, Q. Zheng, W. Yang, and T. Huang, “Novel and efficient curcumin based fluorescent polymer for scale and corrosion inhibition,” *Chem. Eng. J.*, vol. 389, no. July 2019, p. 124296, 2020, doi: 10.1016/j.cej.2020.124296.
- [73] G. J. Tortora and C. L. C. Berdell R. Funke, *Microbiologia*, 12th ed. Porto Alegre: Artmed, 2017.

- [74] U. Norma and G. Consensual, “Padronização dos Testes de Sensibilidade a Antimicrobianos por Disco-difusão : Norma Aprovada – Oitava Edição,” 2003, 1.
- [75] H. C. A. LOYD V. ALLEN JR., NICHOLAS G. POPOVICH, *Formas farmacêuticas e sistemas de liberação de fármacos*, Artmed. Porto Alegre, 2013.
- [76] M. E. O. Sato, F. Gomara, R. Pontarolo, I. F. Andreazza, and M. Zaroni, “Permeação cutânea in vitro do ácido kójico,” *Rev. Bras. Ciências Farm.*, vol. 43, no. 2, pp. 195–203, 2007.
- [77] and M. R. A. M. A. Subhan, K. Alam, M. S. Rahaman, M. A. Rahman, “Synthesis and Characterization of Metal Complexes Containing Curcumin ($C_{21}H_{20}O_6$) and Study of their ...,” *J. Sci. Res.*, vol. 6, no. January 2015, pp. 97–109, 2014, doi: 10.3329/jsr.v6i1.15381.
- [78] H. Hezaveh, I. I. Muhamad, I. Noshadi, L. S. Fen, and N. Ngadi, “Swelling behaviour and controlled drug release from cross-linked -carrageenan / NaCMC hydrogel by diffusion mechanism,” *J. Microencapsul.*, vol. 29, no. 4, pp. 368–379, 2012, doi: 10.3109/02652048.2011.651501.
- [79] Z. Chen *et al.*, “Thermal degradation kinetics study of curcumin with nonlinear methods,” *Food Chem.*, vol. 155, pp. 81–6, Jul. 2014, doi: 10.1016/j.foodchem.2014.01.034.
- [80] A. Rodolfo and L. H. I. Mei, “Mechanisms of PVC thermal degradation and stabilization: A review,” *Polimeros*, vol. 17, no. 3, pp. 263–275, 2007, doi: 10.1590/s0104-14282007000300018.
- [81] K. Piekarska, M. Sikora, M. Owczarek, J. Jóźwik-Pruska, and M. Wiśniewska-Wrona, “Chitin and Chitosan as Polymers of the Future—Obtaining, Modification, Life Cycle Assessment and Main Directions of Application,” *Polymers (Basel)*, vol. 15, no. 4, pp. 1–31, 2023, doi: 10.3390/polym15040793.
- [82] R. Derwin, D. Patton, H. Strapp, and Z. Moore, “The effect of inflammation management on pH, temperature, and bacterial burden,” *Int. Wound J.*, vol. 20, no. 4, pp. 1118–1129, 2023, doi: 10.1111/iwj.13970.
- [83] R. Derwin, D. Patton, H. Strapp, and Z. Moore, “Wound pH and temperature as predictors of healing: an observational study,” *J. Wound Care*, vol. 32, no. 5, pp. 302–310, 2023, doi: 10.12968/jowc.2023.32.5.302.
- [84] M. Lima *et al.*, “Intelligent Optical Temperature Sensor based on Polyglycerol Dendrimer Microspheres Encapsulating Hopeites,” *Mater. Res.*, vol. 24, no. 4, pp. 1–8, 2021.

- [85] S. N. and R. R. S. GUNASEKARAN, R.K. NATARAJAN, "Structural Investigation on Curcumin," *Asian J. Chem.*, vol. 20, no. 4, pp. 2903–2913, 2008.
- [86] T. Stability, S. Release, and C. Antioxidant, "The Stability, Sustained Release and Cellular Antioxidant Activity of Curcumin Nanoliposomes," *Molecules*, vol. 20, no. 8, pp. 14293–14311, 2015, doi: 10.3390/molecules200814293.
- [87] A. Rohman, Sudjadi, Devi, D. Ramadhani, and A. Nugroho, "Analysis of curcumin in curcuma longa and Curcuma xanthorrhiza using FTIR spectroscopy and chemometrics," *Res. J. Med. Plant*, vol. 9, no. 4, pp. 179–186, 2015, doi: 10.3923/rjmp.2015.179.186.
- [88] Y. Zhang, C. Xue, Y. Xue, and X. Zhang, "Determination of the degree of deacetylation of chitin and chitosan by X-ray powder diffraction," *Carbohydr. Res.*, vol. 340, no. 11, pp. 1914–1917, 2005, doi: 10.1016/j.carres.2005.05.005.
- [89] J. Ropponen, T. Tuuttila, M. Lahtinen, S. Nummelin, and K. Rissanen, "Thermal and X-Ray Powder Diffraction Studies of Aliphatic Polyester Dendrimers," *J. Polym. Sci.*, vol. 42, no. 22, pp. 5574–5586, 2004.
- [90] A. Rajasekar and T. Devasena, "Facile Synthesis of Curcumin Nanocrystals and Validation of Its Antioxidant Activity Against Circulatory Toxicity in Wistar Rats," *J. Nanosci. Nanotechnol.*, vol. 15, no. 6, pp. 4119–4125, 2016, doi: 10.1166/jnn.2015.9600.
- [91] S. Tripathi, G. K. Mehrotra, and P. K. Dutta, "Preparation and physicochemical evaluation of chitosan / poly (vinyl alcohol)/ pectin ternary film for food-packaging applications," *Carbohydr. Polym.*, vol. 79, no. 3, pp. 711–716, 2010.
- [92] A. Karewicz *et al.*, "Curcumin-containing liposomes stabilized by thin layers of chitosan derivatives," *Colloids Surfaces B Biointerfaces*, vol. 109, pp. 307–316, 2013, doi: 10.1016/j.colsurfb.2013.03.059.
- [93] D. D. M. Carvalho, K. P. Takeuchi, R. M. Geraldine, C. J. De Moura, M. Célia, and L. Torres, "Production , solubility and antioxidant activity of curcumin nanosuspension," *Food Sci. Technol.*, vol. 35, no. 1, pp. 115–119, 2015.
- [94] M. C. Falconieri, M. Adamo, C. Monasterolo, M. C. Bergonzi, M. Coronello, and A. R. Bilia, "New Dendrimer-Based Nanoparticles Enhance Curcumin Solubility Key words," *Planta Med*, vol. 83, no. 05, p. 3412883, 2017, doi: 10.1055/s-0042-103161.
- [95] W. C. Lin, D. G. Yu, and M. C. Yang, "pH-sensitive polyelectrolyte complex gel microspheres composed of chitosan/sodium tripolyphosphate/dextran sulfate:

- Swelling kinetics and drug delivery properties,” *Colloids Surfaces B Biointerfaces*, vol. 44, no. 2–3, pp. 143–151, 2005, doi: 10.1016/j.colsurfb.2005.06.010.
- [96] Y. Zuo, M. Kong, Y. Mu, C. Feng, and X. Chen, “Chitosan based nanogels stepwise response to intracellular delivery kinetics for enhanced delivery of doxorubicin,” *Int. J. Biol. Macromol.*, vol. 104, pp. 157–164, 2017, doi: 10.1016/j.ijbiomac.2017.06.020.
- [97] M. Pooresmaeil and H. Namazi, “Facile preparation of pH-sensitive chitosan microspheres for delivery of curcumin; characterization, drug release kinetics and evaluation of anticancer activity,” *Int. J. Biol. Macromol.*, vol. 162, pp. 501–511, 2020, doi: 10.1016/j.ijbiomac.2020.06.183.
- [98] S. Du *et al.*, “Covalent Chitosan-Cellulose Hydrogels via Schiff-Base Reaction Containing Macromolecular Microgels for pH-Sensitive Drug Delivery and Wound Dressing,” *Macromol. Chem. Phys.*, vol. 220, no. 23, 2019, doi: 10.1002/macp.201900399.
- [99] F. M. Goycoolea *et al.*, “Temperature and pH-sensitive chitosan hydrogels: DSC, rheological and swelling evidence of a volume phase transition,” *Polym. Bull.*, vol. 58, no. 1, pp. 225–234, 2007, doi: 10.1007/s00289-006-0590-7.
- [100] B. Poornima and P. S. Korrapati, “Fabrication of chitosan-polycaprolactone composite nanofibrous scaffold for simultaneous delivery of ferulic acid and resveratrol,” *Carbohydr. Polym.*, vol. 157, no. February, pp. 1741–1749, 2017.
- [101] X. Zhang *et al.*, “Doubly crosslinked biodegradable hydrogels based on gellan gum and chitosan for drug delivery and wound dressing,” *Int. J. Biol. Macromol.*, vol. 164, no. December, pp. 2020–2021, 2020.
- [102] G. Michailidou *et al.*, “Super-hydrophilic and high strength polymeric foam dressings of modified chitosan blends for topical wound delivery of chloramphenicol,” *Carbohydr. Polym.*, vol. 208, pp. 1–13, 2019.
- [103] J. H. F. Mi, Yu-Bey Wu, S. Shyu, J. Schoung, Yaw-Bin Huang, Y. Tsai, “Control of wound infections using a bilayer chitosan wound dressing with sustainable antibiotic delivery,” *J. Biomed. Mater. Res.*, vol. 59, no. 3, pp. 438–449, 2002, doi: 10.1002/jbm.1260.
- [104] D. Timotius *et al.*, “Kinetics of drug release profile from maleic anhydride-grafted-chitosan film,” *Mater. Res. Express*, vol. 7, no. 4, 2020, doi: 10.1088/2053-1591/ab80d9.

- [105] D. George, P. U. Maheswari, and K. M. M. S. Begum, "Chitosan-cellulose hydrogel conjugated with L-histidine and zinc oxide nanoparticles for sustained drug delivery: Kinetics and in-vitro biological studies," *Carbohydr. Polym.*, vol. 236, no. February, 2020, doi: 10.1016/j.carbpol.2020.116101.
- [106] J. M. Unagolla and A. C. Jayasuriya, "Drug transport mechanisms and in vitro release kinetics of vancomycin encapsulated chitosan-alginate polyelectrolyte microparticles as a controlled drug delivery system," *Eur. J. Pharm. Sci.*, vol. 114, no. December 2017, pp. 199–209, 2018, doi: 10.1016/j.ejps.2017.12.012.
- [107] R. C. Farias, B. G. R. B. de Oliveira, B. M. F. B. Pires, and B. C. de Oliveira, "A INFLUÊNCIA DO PH NO PROCESSO DE CICATRIZAÇÃO DE FERIDAS," in *Medicina: Aspectos Epidemiológicos, Clínicos e Estratégicos de Tratamento 4*, vol. 16, no. 1, Atena Editora, 2021, pp. 1–12. doi: 10.22533/at.ed.5962114051.
- [108] C. Dai *et al.*, "The Natural Product Curcumin as an Antibacterial Agent: Current Achievements and Problems," *Antioxidants*, vol. 11, no. 3, 2022, doi: 10.3390/antiox11030459.
- [109] M. K. Morsy *et al.*, "Curcumin nanoparticles as a natural antioxidant and antimicrobial preservative against foodborne pathogens in processed chicken fingers," *Front. Sustain. Food Syst.*, vol. 7, 2023, doi: 10.3389/fsufs.2023.1267075.
- [110] E. F. de Oliveira, J. V. Tosati, R. V. Tikekar, A. R. Monteiro, and N. Nitin, "Antimicrobial activity of curcumin in combination with light against *Escherichia coli* O157:H7 and *Listeria innocua*: Applications for fresh produce sanitation," *Postharvest Biol. Technol.*, vol. 137, no. May 2017, pp. 86–94, 2018, doi: 10.1016/j.postharvbio.2017.11.014.