

B IOMATERIAIS APLICADOS AO
DESENVOLVIMENTO DE SISTEMAS
TERAPÊUTICOS AVANÇADOS

B IOMATERIALES APLICADOS
AL DISEÑO DE SISTEMAS
TERAPÉUTICOS AVANZADOS

Hermínio C. de Sousa
Mara E. M. Braga
Alejandro Sosnik
(editores)

CAPÍTULO 2. APLICAÇÃO DE POLISSACARÍDEOS PARA A PRODUÇÃO DE CURATIVOS E OUTROS BIOMATERIAIS

Cecilia Z. Bueno, Itiara G. Veiga, Priscila S. C. Sacchetin, Márcia Z. Bellini, Ângela M. Moraes
*Departamento de Engenharia de Materiais e de Bioprocessos, Faculdade de Engenharia
Química, Universidade Estadual de Campinas, Campinas, Brasil.*

Resumo:

Neste capítulo, são inicialmente discutidas, em caráter introdutório, definições conceituais acerca dos biomateriais e dos tipos de compostos que os constituem (metais, cerâmicas, polímeros sintéticos e naturais e compósitos), abordando-se também aspectos relativos a suas aplicações e a seu mercado. Na sequência, em razão de sua atratividade decorrente de características como renovabilidade, citotoxicidade baixa ou inexistente, biodegradabilidade e, em alguns casos, atividade biológica, a classe dos polímeros naturais do tipo polissacarídeos é enfocada de forma pormenorizada. Aspectos relativos à estrutura química e à organização molecular tridimensional desta categoria de compostos são enfocados e algumas de suas principais limitações em termos de aplicações tecnológicas são apresentadas. Características específicas de alguns dos polissacarídeos utilizados com maior frequência para a obtenção de produtos destinados à área de saúde são abordadas, como a quitosana, o alginato, a xantana e a pectina, em maior nível de detalhamento, e a celulose, o ácido hialurônico, o amido, a agarose, a carragena, a gelana, a goma guar, a galactomanana, a heparina e a dextrina, de forma menos abrangente. Em seguida, quatro diferentes tipos de aplicações de polissacarídeos na

constituição de biomateriais são descritos: o desenvolvimento de curativos para aplicação em lesões de pele, a obtenção de matrizes úteis como suporte celular na engenharia de tecidos, a produção de dispositivos para a prevenção de adesões peritoneais e desenvolvimento de nano e micropartículas para utilização na liberação controlada de agentes bioativos.

Palavras-chave: polímeros naturais; polissacarídeos; quitosana; alginato; xantana; pectina.

Abstract:

In this chapter, conceptual definitions of biomaterials and the types of compounds used in their constitution (metals, ceramics, natural and synthetic polymers and composites) are initially discussed, as well as aspects related to the biomaterials application and market. Due to the attractiveness of polysaccharides, a class of natural polymers, attributed to characteristics such as renewability, low or no cytotoxicity, biodegradability and, in some cases, biological activity, these particular compounds are focused in more detail. Aspects related to their chemical structure and three-dimensional molecular organization are discussed and some of their key limitations in terms of technological applications are presented. Some of the polysaccharides most frequently used to obtain products for health care and their specific features are addressed, such as chitosan, alginate, xanthan gum and pectin, covered in greater detail, and cellulose, hyaluronic acid, starch, agarose, carrageenan, gellan gum, guar gum, galactomanan, heparin and dextrin, focused in a less comprehensive way. Finally, four different applications of polysaccharides in the constitution of biomaterials are described: the development of dressings for skin lesions, the production of matrices applicable as scaffolds for cell culture in tissue engineering, production of devices for the prevention of peritoneal adhesions and development of nano- and microparticles for use in the controlled release of bioactive agents.

Keywords: natural polymers; polysaccharides; chitosan; alginate; xanthan; pectin.

2.1. Biomateriais: conceitos, aplicações e mercado

Os biomateriais são utilizados há mais de 2000 anos para o tratamento de tecidos e partes do corpo humano danificadas. Os primeiros exemplos do uso dos biomateriais são implantes dentários produzidos a partir de ouro ou madeira e próteses oculares feitas de vidro. Ao final da Segunda Guerra Mundial, materiais de alto desempenho originalmente desenvolvidos para fins militares, como metais inertes, cerâmicas e principalmente polímeros como o poli(metil metacrilato) (PMMA), começaram a ser utilizados por cirurgiões. Um dos exemplos mais inspiradores do início do uso de materiais de alto desempenho é o desenvolvimento da primeira prótese de quadril, à base de polietileno de alta massa molar e PMMA, em 1961. Após estes primeiros passos, criou-se um novo campo de pesquisa na década de 60, focado no desenvolvimento de novos biomateriais com desempenho biológico melhorado [1].

Atualmente, os biomateriais são utilizados em aplicações complexas, como a liberação controlada de fármacos e de genes, a engenharia de tecidos, a terapia celular, o desenvolvimento de órgãos tridimensionais e os sistemas de imagem e diagnóstico baseados em microeletrônica e nanotecnologia [2].

Devido aos constantes avanços neste campo de pesquisa, que ampliou a cada ano as possibilidades de aplicações dos materiais na medicina, a definição do termo “biomaterial” tem sido motivo de debates e discussões. Até 1986, quando se realizou a 1ª Conferência de Consenso sobre Definições em Ciência dos Biomateriais, não se havia estabelecido uma definição consistente deste termo. Foi somente nesta conferência que um biomaterial foi definido como “um material não viável usado em dispositivos biomédicos destinados a interagir com sistemas biológicos”. No entanto, ao longo dos anos, o termo *não-viável* foi excluído desta definição [2].

Em 1991, durante a 2ª Conferência de Consenso sobre Definições em Ciência dos Biomateriais, o seguinte significado foi proposto para biomateriais: “materiais destinados a fazer contato com sistemas biológicos para avaliar, tratar, aumentar ou substituir qualquer tecido, órgão ou função do corpo” [1].

Mais tarde, no ano de 2009, Williams redefiniu o termo biomaterial: “Um biomaterial é uma substância projetada para tomar uma determinada forma tal que, sozinha ou como parte de um sistema complexo, é utilizada para direcionar, pelo controle das interações com componentes de sistemas vivos, qualquer procedimento terapêutico ou diagnóstico, na medicina humana ou veterinária” [2].

O desenvolvimento e aplicação de um biomaterial envolvem várias áreas do conhecimento, sendo necessário que haja colaboração entre profissionais de diferentes especialidades, como a engenharia, a biologia e as ciências clínicas. No campo da engenharia, é necessário ter conhecimento da ciência dos materiais, ou seja, da relação estrutura-propriedade dos materiais sintéticos e biológicos. No campo da biologia, é necessário o conhecimento da organização celular e molecular, da anatomia e fisiologia humana e animal, além da imunologia. Já no campo das ciências clínicas, dependendo da aplicação do biomaterial, as especialidades de odontologia, neurocirurgia, ginecologia e obstetrícia, oftalmologia, ortopedia, otorrinolaringologia, cirurgia plástica e reconstrutiva, cirurgia torácica e cardiovascular, medicina veterinária e cirurgia geral podem estar envolvidas [3].

Dentre os fatores que governam a escolha de um material para a produção de determinado dispositivo biomédico, a biocompatibilidade está entre os mais importantes. A biocompatibilidade refere-se à capacidade do material de não despertar respostas biológicas indesejáveis que poderiam culminar, por exemplo, na rejeição do material pelos tecidos que o circundam e pelo corpo como um todo. Materiais biocompatíveis não irritam as estruturas biológicas que os cercam, não provocam respostas inflamatórias, não incitam reações alérgicas ou imunológicas e não causam câncer [3].

Outros fatores importantes relacionados à seleção do material a ser utilizado na produção de um dispositivo para aplicações biomédicas são as propriedades mecânicas (como a dureza e a elasticidade), químicas (como, por exemplo, a degradabilidade) e óticas (como a transparência), a facilidade de processamento, o custo, as regulações federais promovidas por órgãos como a FDA (*Food and Drug Administration*, EUA), a

EMA (*European Medicines Agency*, Europa), a ANMAT (*Administración Nacional de Medicamentos, Alimentos y Tecnología Médica*, Argentina) e a ANVISA (Agência Nacional de Vigilância Sanitária, Brasil), seu comportamento frente à esterilização e a possibilidade de armazenamento por longos períodos de tempo [3-5].

Componentes das categorias dos metais, cerâmicas, polímeros (sintéticos e naturais) e compósitos podem ser empregados na constituição de biomateriais [3], conforme exemplificado na Tabela 2.1.

Tabela 2.1. Exemplos de aplicações de compostos sintéticos e naturais modificados ou não na composição de diferentes tipos de biomateriais [3,4].

Aplicação	Tipo de material	Exemplos
Sistema ósseo		
Implante de articulação (quadril, joelho)	Metal	Ti, liga de Ti-Al-V, aço inoxidável
Placa óssea	Metal	Aço inoxidável, liga de Co-Cr
Cimento ósseo	Polímero	Polimetilmetacrilato
Reparo de defeito ósseo	Cerâmica	Hidroxiapatita
Tendão e ligamento artificial	Polímero	Teflon, Dacron
Implante dentário	Metal e cerâmica	Titânio, alumina, fosfato de cálcio
Sistema cardiovascular		
Prótese de veias sanguíneas	Polímero	Dacron, Teflon, poliuretano
Coração artificial	Polímero	Poliuretano
Válvula cardíaca	Metal	Aço inoxidável
Catéter	Polímero	Silicone, Teflon, poliuretano
Órgãos		
Reparo de pele	Compósito	Compósito de silicone e colágeno
Rim artificial	Polímero	Celulose, poliacrilonitrila
Máquina coração-pulmão	Polímero	Silicone
Órgãos dos sentidos		
Implante de cóclea	Metal	Eletrodos de platina
Lentes intraoculares	Polímero	Polimetilmetacrilato, silicone, hidrogéis
Lentes de contato	Polímero	Silicone-acrilato, hidrogel
Curativo de córnea	Polímero	Colágeno, hidrogel

Os metais podem ser utilizados na substituição passiva de tecidos duros, devido às suas excelentes condutividade elétrica e térmica, propriedades mecânicas e resistência à corrosão. Alguns exemplos de aplicações dos metais são os implantes dentários, de quadril e de joelhos, placas e pinos ósseos e dispositivos de fixação da espinha dorsal. Algumas ligas metálicas podem desempenhar papéis mais ativos, compondo

endopróteses vasculares (*stents*), catéteres guia, arcos ortodônticos e implantes de cóclea [3].

As cerâmicas são compostos refratários e policristalinos, normalmente inorgânicos. Estes materiais são muito biocompatíveis, inertes e resistentes à compressão, podendo ser empregados na cobertura de implantes dentários e ortopédicos, por exemplo [3].

Os polímeros apresentam vantagens se comparados aos metais e cerâmicas, como a manufaturabilidade, podendo tomar diversas formas como látex sintético (emulsão de micropartículas poliméricas em meio aquoso), filmes, folhas, fibras e partículas, dentre outras. Polímeros podem ser utilizados na constituição de instrumentos médicos descartáveis, próteses, implantes, curativos, *scaffolds* (suportes para crescimento celular), dispositivos extracorpóreos, agentes encapsulantes e sistemas de liberação de fármacos. Vários polímeros biodegradáveis têm se destacado no campo dos biomateriais devido à sua processabilidade e boa biocompatibilidade [3], gerando produtos não citotóxicos durante sua degradação.

Diferentes categorias de substâncias podem ser também utilizadas de forma simultânea na produção de biomateriais, como os compósitos. Os materiais compósitos são sólidos que contêm dois ou mais constituintes distintos ou fases distintas, por exemplo, um polímero reforçado com fibras. As propriedades de um material compósito podem ser significativamente distintas das características dos materiais homogêneos que o formam, buscando-se, normalmente melhores propriedades mecânicas. Compósitos podem ser utilizados, por exemplo, na composição de implantes articulares e de válvulas cardíacas [3].

O mercado global dos biomateriais vem crescendo a cada ano. Em 2008, este mercado foi de US\$ 25,6 bilhões. De acordo com uma projeção realizada por especialistas da *Markets and Markets*, uma companhia especializada em pesquisa de mercado, até 2015 é prevista uma taxa de crescimento anual de 15%, elevando o valor do mercado global para US\$ 64,7 bilhões [6].

O crescimento constante da indústria dos biomateriais é um reflexo do envelhecimento da população, o que faz com que o número de in-

divíduos que necessitam de cuidados médicos aumente. A geração de *baby boomers* nascidos entre 1946 e 1964 são atualmente os principais consumidores dos biomateriais, mas prevê-se que, em 2050, mais de 20% da população global terá idade acima dos 60 anos, ou seja, será possivelmente verificado um aumento significativo no número de usuários de tais dispositivos. Assim, o mercado dos biomateriais representa uma oportunidade significativa para produtos e processos inovadores, de forma que maiores investimentos em pesquisa são necessários a fim de se desenvolver produtos inéditos e mais eficazes a preços competitivos [6].

Os biomateriais ortopédicos, compostos principalmente por metais e cerâmicas, representam um grande destaque de vendas, tendo atingido o recorde de receitas de US\$ 12 bilhões em 2010, equivalente a 37,5% do mercado global desta categoria de produtos [6]. As vendas anuais de biomateriais para aplicações em medicina regenerativa também vêm se destacando no mercado mundial, tendo excedido US\$ 240 milhões no ano de 2007 [7,8]. Alguns dos dispositivos mais fabricados mundialmente são os catéteres, os sacos de diálise, as lentes de contato, as lentes intraoculares, os *stents* coronários e os implantes dentários [5].

Neste crescente mercado dos biomateriais, os polissacarídeos aparecem com grande destaque devido à sua estrutura química, aliada a propriedades atraentes como toxicidade reduzida ou inexistente, hidrofiliabilidade, biocompatibilidade, biodegradabilidade, multiquiralidade e multifuncionalidade [9], podendo ser empregados com sucesso como matérias-primas na produção de uma extensa gama de dispositivos biomédicos.

2.2. Polissacarídeos mais comumente empregados

Os polissacarídeos são biopolímeros constituídos de monossacarídeos (normalmente hexoses) unidos através de ligações glicosídicas [10], sendo normalmente obtidos pela biossíntese em plantas, em algas, ou em animais; alguns também podem ser produzidos por microorganismos [11]. Esta classe de polímeros apresenta grupos químicos reativos característicos, como hidroxila, amino, acetamido, carboxila e sulfato, que

lhe conferem propriedades únicas [9]. Além disso, possuem alta massa molar com ampla distribuição de tamanhos. Do ponto de vista de cargas elétricas, os polissacarídeos podem ser divididos em polieletrólitos (positivamente e negativamente carregados) e não-polieletrólitos [12].

A presença de um grande número de grupos $-OH$ nos polissacarídeos leva à tendência à formação de pontes de hidrogênio intra e intercadeias, que, por sua vez, podem resultar na redução da solubilidade, com consequente formação de agregados em solução, contribuindo positivamente também no aspecto de formação de filmes. O leve caráter hidrofóbico decorrente da presença de grupos $-CH$ leva à formação de estruturas estereorregulares de caráter semi-rígido e com conformação helicoidal em solução. Além disso, a estabilidade estrutural é dependente, com frequência, da temperatura e da presença de íons [11].

Os polissacarídeos desempenham papel importante como agentes espessantes, gelificantes, emulsificantes, hidratantes e de suspensão, constituindo uma classe de materiais com importantes aplicações nas indústrias de alimentos, cosmética, biomédica e farmacêutica. A propriedade de formar gel sob condições termodinamicamente bem definidas tem especial relevância [11].

Ainda que apresentem algumas limitações, como a variabilidade entre lotes, as propriedades mecânicas por vezes inadequadas e dificuldades de processamento, as características de biocompatibilidade e biodegradabilidade dos polissacarídeos, além do baixo custo aliado à alta disponibilidade, os tornam bons candidatos para aplicações na obtenção de biomateriais [11,13]. Uma vez que a variabilidade na composição e no tamanho das cadeias é inerente aos polímeros obtidos de fontes naturais, é recomendado que, ao se relatar resultados experimentais obtidos pelo uso de polissacarídeos, sua fonte, fornecedor e número do lote, dentre outras especificações relevantes, sejam claramente apontados.

Alguns polissacarídeos têm atraído a atenção de pesquisadores das áreas de bioquímica e farmacologia por apresentarem atividades biológicas relacionadas às suas estruturas químicas, como a lentinana, a heparina [14], a quitosana e o ácido hialurônico [15]. Três fatores contribuíram para o reconhecimento da aplicabilidade dos polissacarídeos nestas áreas

[16]. O primeiro foi o aumento do número de informações que apontam o papel fundamental de frações sacarídeas como marcadores celulares, particularmente na área de imunologia. O segundo foi o desenvolvimento de técnicas eficazes para automatizar a síntese de oligossacarídeos biologicamente ativos. E o terceiro fator foi o rápido crescimento das pesquisas em engenharia de tecidos e a necessidade de novos materiais com atividade biológica e biodegradabilidade controláveis.

No campo da liberação controlada, os polissacarídeos naturais têm sido cada vez mais empregados devido às suas propriedades diferenciadas, tornando-se, talvez, os materiais poliméricos mais populares nesta área [12]. Os polissacarídeos naturais podem agir como excipientes na liberação controlada, protegendo o fármaco, aumentando a estabilidade da preparação farmacêutica, aumentando a biodisponibilidade do fármaco e a sua aceitação pelo paciente, sendo degradados pelo organismo enquanto o fármaco é liberado. Com o uso de polissacarídeos no campo da liberação controlada, tem-se tornado possível manter a concentração de fármaco constante no organismo durante períodos relativamente longos de tratamento, de modo que o mesmo atinja o efeito desejado sem causar efeitos colaterais [17]. Alguns exemplos de sistemas de liberação controlada obtidos a partir de polissacarídeos são as partículas, os hidrogéis e os curativos de pele contendo fármacos.

A incorporação de fármacos e outros compostos bioativos pode ser feita por simples mistura física ou por imersão do dispositivo em uma solução contendo o agente ativo. Apesar de simples, tais métodos possuem desvantagens como, por exemplo, o uso de solventes orgânicos, possível ocorrência de reações indesejáveis e/ou degradação do material, baixo rendimento de incorporação, dispersão heterogênea do fármaco no dispositivo e a possível necessidade de secagem do material após o processo de impregnação. Neste contexto, o uso de CO₂ supercrítico como veículo de impregnação possui diversas vantagens, como o fato de ser de baixo custo, não tóxico e não inflamável, não deixar resíduos após o processamento, eliminando a etapa final de processamento ou secagem do dispositivo [18,19]. A impregnação de agentes ativos com fluidos supercríticos é abordada em detalhes no Capítulo 8.

Alguns exemplos de polissacarídeos comumente empregados na constituição de biomateriais são a quitosana, o alginato, a xantana, a pectina, a celulose, a dextrina, o ácido hialurônico, a galactomanana, a carragena, a agarose, a gelana, a goma guar, a heparina e o amido, sendo os de maior relevância abordados detalhadamente nos próximos itens.

2.2.1. Quitosana

A quitina, o segundo polissacarídeo mais abundante na natureza, é encontrada no exoesqueleto de animais, especialmente de crustáceos, moluscos e insetos, sendo também o principal polímero fibrilar constituinte da parede celular de alguns fungos. Pela desacetilação alcalina da quitina, em que ligações N-acetil são rompidas formando D-glicosamina com um grupo amino livre, obtém-se a quitosana, um copolímero catiônico formado por $\beta(1-4)$ -glicosamina e N-acetil-d-glicosamina [20,21]. O grau de desacetilação da quitosana, geralmente de 50 a 90%, é um parâmetro estrutural que influencia propriedades como a massa molar, o alongamento e a tensão na ruptura, além de propriedades biológicas como a adesão e proliferação celular [16,22].

A quitosana é um polímero biocompatível, biodegradável e bioativo, com estrutura linear semelhante à das glicosaminoglicanas presentes na cartilagem [21,23], sendo sua estrutura mostrada na Figura 2.1. É insolúvel em água e solúvel em soluções ácidas fracas, possuindo massa molar entre 10 e 1000 kg/mol e pKa em torno de 6,3 [13]. Seu processamento é relativamente simples, podendo ser moldada em diversas formas, possibilitando a formação de estruturas com diferentes tamanhos [25]. Por estes motivos, a quitosana vem sendo comumente estudada em diversas aplicações na área de biomateriais. Diferentes tipos de materiais produzidos à base de quitosana para diversas aplicações biomédicas são relatados na literatura, como hidrogéis, membranas, nanofibras, cápsulas, micro e nanopartículas, *scaffolds* e esponjas [21]. Testes clínicos comprovam que tais materiais não resultam em reações alérgicas ou inflamatórias após o implante, a injeção, a aplicação tópica ou a ingestão por humanos [22]. Se combinada

com materiais condutores como carbono, partículas metálicas e polímeros, a quitosana pode ser também empregada na produção de biossensores e imunossensores, úteis como ferramentas de diagnóstico [9,26].

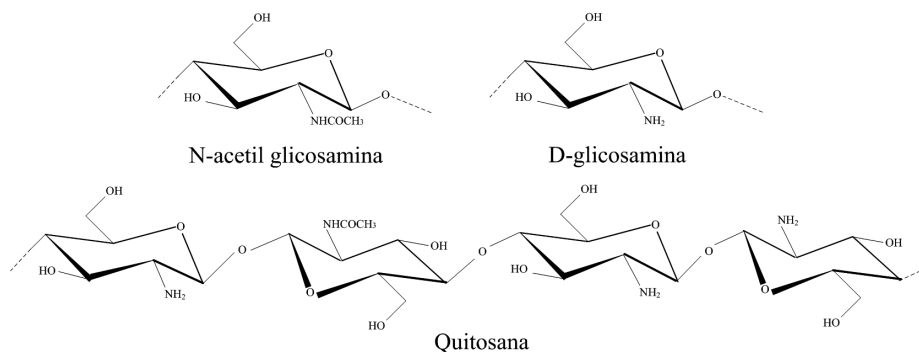


Figura 2.1. Estrutura da quitosana (adaptada de Wiegand e Hipler [24]).

A quitosana pode ser encontrada na composição de curativos dérmicos já disponíveis comercialmente, atuando como agente hemostático [27]. Uma vez colocados sobre a lesão, os filmes de quitosana são capazes de aderir aos fibroblastos e favorecer a proliferação de queratinócitos, ajudando na regeneração epidérmica [22]. Diversos tipos de lesões tratadas com quitina e quitosana em diferentes tipos de animais apresentam diminuição no tempo de tratamento, com formação mínima de cicatrizes [28].

Grande parte do potencial atribuído à quitosana em aplicações na área de saúde humana deve-se à sua natureza catiônica e à sua alta densidade de cargas quando em solução. Esta característica possibilitou a entrada da quitosana no mercado de nutracêuticos como um agente hipocolesterolêmico e hipolipidêmico capaz de capturar lipídios negativamente carregados, impedindo sua absorção pelo sistema digestório [29]. Entretanto, para aplicações biomédicas, apreciável foco é dado à capacidade de interação da quitosana com polímeros de carga oposta para formação de complexos polieletrólitos [16]. Diversos estudos indicam uma variedade de polímeros aniônicos capazes de formar complexos iônicos insolúveis com a quitosana, dentre eles pode-se citar a dextrana

[30], a carboximetildextrana [31], o alginato [32-36], alguns poliésteres [23,37], as fibras de seda [38], a gelatina [39] e a xantana [40-42].

Atualmente a quitosana tem sido amplamente utilizada na produção de materiais destinados à aplicação na engenharia de tecidos. Combinada com proteínas (fibroína, gelatina ou colágeno), polímeros sintéticos como o poli(óxido de etileno), o poli(succinato de butileno), a poli(caprolactona) e o poli(ácido lático), dentre outros, e com polímeros naturais (como o alginato e a xantana), a quitosana permite o desenvolvimento de matrizes tridimensionais para adesão e crescimento celular, aplicáveis na reparação e regeneração de diversos tipos de tecidos como cartilagens, ossos e pele [16,23,27,42-44].

Verifica-se assim, que a quitosana, isolada ou em conjunto com outros materiais, possui vasta aplicabilidade no campo dos biomateriais, especialmente na engenharia de tecidos.

2.2.2. Alginato

O alginato é habitualmente extraído da parede celular de três espécies de algas marrons comuns em regiões costeiras: *Laminaria hyperborean*, *Ascophyllum nodosum* e *Macrocystis pyrifera*, podendo ser também isolado a partir de bactérias [45] como *Azotobacter* e *Pseudomonas*, rota esta ainda não economicamente viável para aplicações comerciais, sendo portanto restrita a estudos em escala laboratorial [46]. O alginato é responsável por garantir que não ocorra o ressecamento das algas durante a maré baixa, sendo obtido originalmente na forma de um sal sódico do ácido alginico. Constitui-se em um polissacarídeo solúvel em água à temperatura ambiente, composto por blocos homopoliméricos de β -D-ácido manurônico (Figura 2.2-a) e de epímeros C-5 de α -L-ácido gulurônico (Figura 2.2-b), sendo estes ligados covalentemente em diferentes sequências e blocos [49]. Tais blocos poliméricos podem consistir de resíduos consecutivos de ácido gulurônico e manurônico ou de grupamentos alternados de ambos (Figura 2.2-c), sendo que a quantidade e a distribuição de cada monômero dependem da espécie, localização e idade das algas a partir das quais o alginato é extraído [50].

Recentemente, um processo enzimático foi desenvolvido visando à obtenção de cadeias com sequências de proporções conhecidas de ácido manurônico e gulurônico, impactando na distribuição conformacional das cadeias e possibilitando a predição das propriedades de gelificação do alginato [45]. De acordo com Cook *et al.* [52], o alginato comercialmente disponível atualmente apresenta cadeias com uma ampla faixa de tamanhos, variando de poucas dezenas a centenas de quilodáltons. A presença de grupos carboxila com resíduos de ácido gulurônico conferem ao alginato uma carga global negativa em pH 7,0, usualmente compensada pelo uso de cátions de Na^+ [53]. A viscosidade das soluções de alginato tende a aumentar com a redução do pH, sendo que valores máximos de viscosidade são encontrados em pH em torno de 3,0 a 3,5, uma vez que nestes valores de pH observa-se a protonação dos grupos carboxila, permitindo, desta forma, a formação de pontes de hidrogênio [54].

Há diversos métodos de formação do hidrogel usado na obtenção de dispositivos biomédicos comumente empregados; dentre eles destacam-se: a reticulação iônica, a reticulação covalente e a gelificação térmica [54]. A escolha do método a ser usado é dependente das características do processo, do agente ativo a ser incorporado nas matrizes poliméricas e das propriedades finais do gel obtido, bem como do local e da forma de veiculação do dispositivo de liberação controlada constituído a partir deste material.

A formação de gel de alginato por reticulação iônica resulta de ligações que ocorrem entre as carboxilas do polissacarídeo e cátions divalentes, de modo que estes se alojam entre as cadeias do polímero, levando à produção de uma estrutura na forma de rede. Como blocos ricos em ácido gulurônico são capazes de se ligar aos cátions divalentes como Ba_2^+ , Ca_2^+ , Sr_2^+ e Zn_2^+ , comumente usados na reticulação deste polímero [52], dependendo da composição e sequência dos blocos da cadeia polimérica, o alginato pode apresentar diferentes preferências conformacionais ou mesmo comportamentais [49]. As interações entre os cátions divalentes e os resíduos de ácido gulurônico são responsáveis pela formação de uma estrutura regular e similar a uma caixa de ovos (Figura 2.2-d,e). A cinética de formação do gel é rotineiramente muito rápida e o gel

resultante é forte o suficiente para ser utilizado em diversas aplicações biomédicas e industriais [45]. O número de reticulações, assim como as propriedades mecânicas e o tamanho do poro dos géis reticulados ionicamente podem ser facilmente manipuladas através da variação das proporções entre os resíduos de ácido manurônico e gulurônico e a massa molar da cadeia polimérica [50].

A formação de gel de alginato pelo uso de íons Ca_2^+ pode ser realizada por procedimentos simples como o gotejamento da solução polissacarídica diretamente em soluções ricas neste cátion. Alternativamente, a rede de gel pode ser formada pelo método de reticulação interna, em que se adiciona diretamente à solução de alginato um sal insolúvel de cálcio. Neste caso, após a formação de partículas de alginato, por exemplo, por emulsão, adiciona-se uma solução ácida que solubiliza o sal de cálcio, tornando os íons Ca_2^+ disponíveis para efetuar interações iônicas e, conseqüentemente, reticular o alginato [55]. Em qualquer um dos métodos, a quantidade de íons Ca_2^+ presente no sistema tende a influenciar a estabilidade destas redes poliméricas, podendo se estabelecer associações inter-cadeias do tipo temporárias ou até mesmo permanentes [34]. Quando os níveis de cálcio no gel são baixos o suficiente para formar um hidrogel, observam-se formações do tipo temporárias que posteriormente transformam-se em soluções altamente viscosas e tixotrópicas, ou seja, géis que facilmente se liquefazem quando submetidos a determinada quantidade de calor ou tensão mecânica, como cisalhamento e/ou vibrações. Já quando a quantidade de íons cálcio é elevada, ocorrem associações de cadeias do tipo permanente, observando-se a formação de um gel mais rígido ou mesmo de um precipitado. Alternativamente, observa-se a formação de géis de ácido algínico pela redução do pH da solução de alginato.

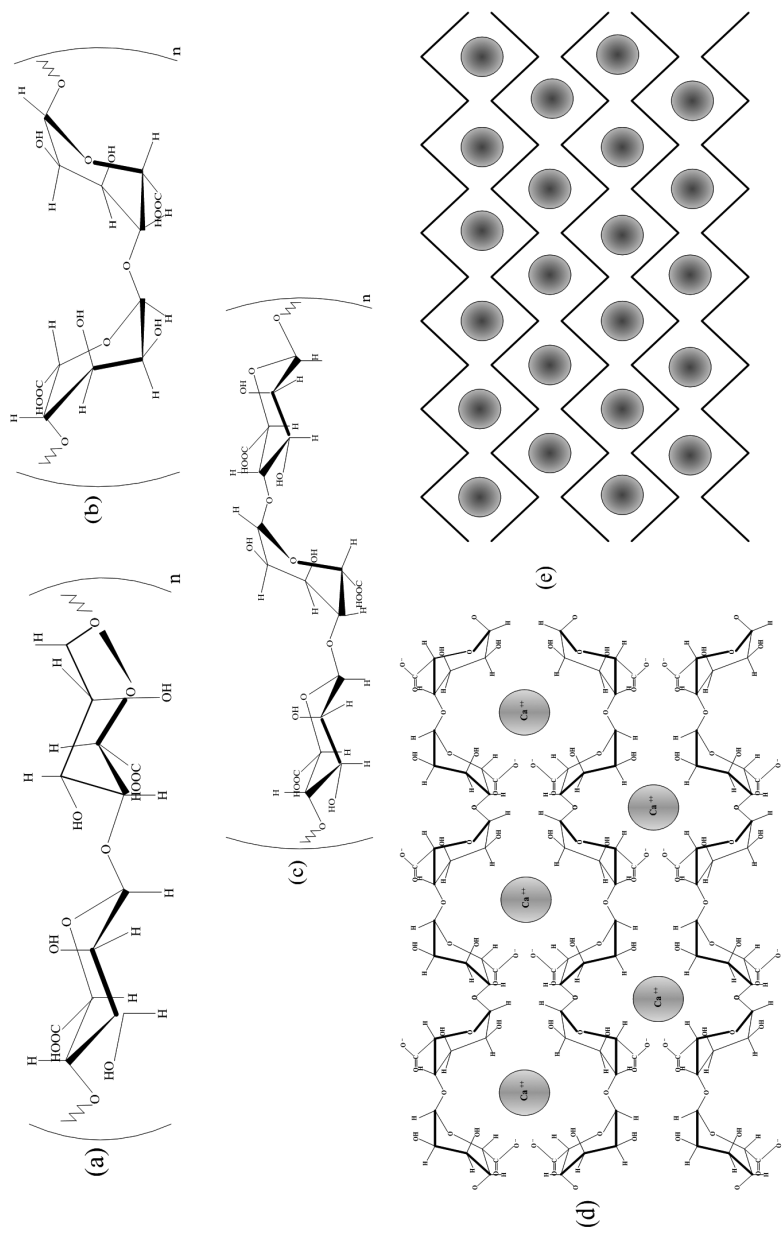


Figura 2.2. Estrutura química do alginato: cadeia de resíduos de ácido manurônico (a); cadeia de resíduos de ácido gulurônico (b); cadeia de resíduos alternados de ácidos manurônico e gulurônico (c). Formação da rede de gel de alginato de cálcio: ligação entre as cadeias poliméricas através dos íons cálcio situados entre os grupos de carga negativa (d); formação da rede de gel pelas cadeias de polissacarídeos unidas pelos íons cálcio (e), com estrutura similar à de uma caixa de ovos (adaptado de Kawaguti e Sato [47] e Sacchettin [48]).

Diversos estudos têm demonstrado que fatores como a estrutura química e o tamanho da molécula de alginato, assim como a cinética de formação do gel, aliada ao tipo de íon empregado e os arranjos dos resíduos uroatos são determinantes de propriedades como porosidade, capacidade de intumescimento, biodegradabilidade, estabilidade, resistência do gel, biocompatibilidade e características imunológicas [34,46]. Géis à base de alginato podem ser facilmente dissolvidos através de um processo envolvendo a perda de íons divalentes para o meio, devido às reações de troca com cátions monovalentes, tais como os íons de sódio [54,56]. Apesar das cadeias de alginato isoladas serem bastante estáveis em condições fisiológicas, pode ocorrer sua lenta despolimerização através da clivagem das ligações glicosídicas em condições ácidas ou básicas, não se tendo evidências, contudo, da ocorrência em humanos de enzimas que degradem o alginato. Alternativamente, tem-se desenvolvido estratégias para melhorar os processos de degradação do alginato quando em meios fisiológicos, pelo uso da oxidação parcial das cadeias do polímero, uma vez que, em meio aquoso, estas cadeias fracamente oxidadas seriam facilmente degradadas, permitindo o uso deste material como veículo biodegradável na liberação controlada de drogas [54].

O alginato possui variadas aplicações na ciência biomédica e engenharia devido às suas propriedades favoráveis, como biocompatibilidade e capacidade de gelificação. Os hidrogéis de alginato têm aplicação como curativos de pele, na liberação controlada de fármacos e na engenharia de tecidos, uma vez que estes géis possuem estrutura similar à de matrizes extracelulares de tecidos e podem ser manipulados de forma a desempenhar diferentes papéis. Em particular, os curativos à base de alginato podem ser empregados com sucesso no tratamento de feridas crônicas, minimizando possíveis infecções bacterianas, promovendo um ambiente úmido que facilita o processo de cicatrização [54]. Tal abordagem foi usada, por exemplo, para a produção de curativos de alginato contendo fator 1 derivado de células tronco capazes de acelerar o processo de cicatrização [57] e incorporando prata como agente antimicrobiano [58]. Géis de alginato podem ser também usados com sucesso para a liberação de proteínas usadas na engenharia e regeneração de tecidos e órgãos, como no trabalho desenvolvido por Jay

e Saltzmann [59], que empregaram géis de alginato para liberar fatores de crescimento capazes de promover o desenvolvimento de vasos sanguíneos. Além disso, géis de alginato têm sido empregados para incorporar substâncias que necessitem ser protegidas da ação do pH, por exemplo, antibióticos como a amoxicilina usada na erradicação de *Helicobacter pylori* [60].

2.2.3. Xantana

A goma xantana é um exopolissacarídeo hidrossolúvel produzido por bactérias do gênero *Xantomonas*, com grande destaque no mercado de biopolímeros devido a suas características funcionais, como: capacidade de emulsificar, estabilizar, flocular e suspender soluções aquosas, formando assim géis e membranas [61]. Economicamente, a xantana é o polissacarídeo microbiano mais importante, com produção mundial estimada para o ano 2015 de 80 mil toneladas e movimentação de 400 milhões de dólares ao ano [62].

Com massa molar média aproximada de $2 \cdot 10^6$ g/mol, podendo apresentar de $13 \cdot 10^6$ a $50 \cdot 10^6$ g/mol dependendo das condições de fermentação utilizadas para sua obtenção [63] e pKa de 2,87 [64], a xantana apresenta estrutura química constituída por uma cadeia linear principal formada por grupos de β -D-glicose unidos por ligações 1 \rightarrow 4, similar à da celulose, contendo ramificações trissacarídicas laterais em glicoses alternadas, na posição C(3). Tais ramificações são constituídas por grupos β -D-manose-1,4- β -D-ácidoglicurônico-1,2- α -D-manose, como mostrado na Figura 2.3. É possível a existência de grupos O-acetil na posição C(6) da α -D-manose interna e 4,6-ácido pirúvico na β -D-manose terminal [66,67].

Propriedades reológicas importantes, como alta viscosidade mesmo em baixas concentrações, elevado grau de pseudoplasticidade, estabilidade em amplas faixas de pH (2 a 11), em temperaturas elevadas (acima de 90°C) e em altas concentrações de eletrólitos (150g/L NaCl), além da factibilidade de produção em grande escala em curto espaço de tempo por processo fermentativo [63], conferem à xantana ampla utilização em diversos segmentos industriais, como na indústria alimentícia, petrolífera, farmacêutica, cosmética, têxtil, de tintas e de produtos agrícolas.

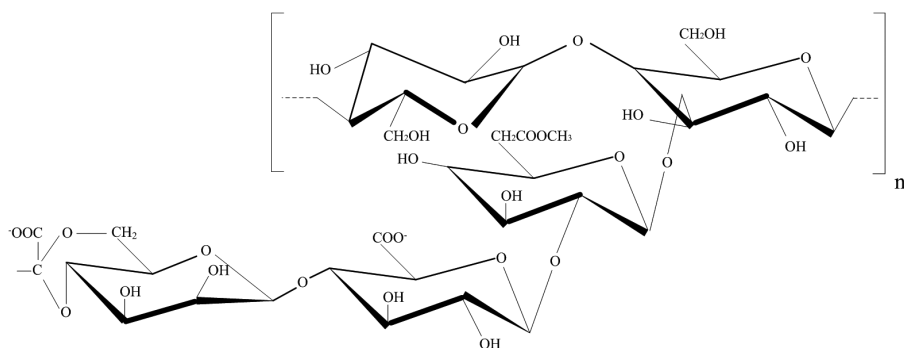


Figura 2.3. Estrutura química da xantana (baseado em García-Ochoa *et al.* [65]).

Nos últimos anos, o emprego da goma xantana na produção de biomateriais poliméricos destinados a diversas aplicações na área da medicina vem crescendo consideravelmente, como por exemplo em sistemas de liberação controlada de fármacos [61,68-70], oftalmologia [71,72]; implantes [73] e engenharia de tecidos [42,74]. A preferência por biopolímeros de origem microbiana ao invés daqueles oriundos de plantas, algas ou animais fundamenta-se na vantagem da produção independente de regiões ou condições climáticas específicas, permitindo sua obtenção em condições controladas, em lotes mais homogêneos e com qualidade mais assegurada e menos variável.

Recentes estudos comprovam que a utilização deste biopolímero na biomedicina pode ser considerada como segura. Popa *et al.* [75], através de ensaios *in vitro* e *in vivo*, comprovaram a biocompatibilidade de comprimidos produzidos a partir do complexo poliônico xantana-quitosana para a liberação controlada de teofilina. Vacinas lipossomais contra o vírus H5N3 contendo goma xantana como polissacarídeo bioadesivo foram testadas em galinhas mostrando-se atóxicas, não sendo verificada qualquer anormalidade morfológica de macrófagos provenientes do baço das aves expostas a este dispositivo [68].

A atividade antitumoral da xantana também é mencionada na literatura. Takeuchi *et al.* [76] administraram células de melanoma B16K^b em camundongos submetidos a uma dieta contendo goma xantana. Os pesquisadores observaram a supressão do crescimento das células tumorais e o aumento da sobrevivência dos animais, assim como maior atividade de células *natural*

killer (NK) e de resposta tumor-específica de células T CD8 do grupo tratado com xantana quando comparados ao grupo controle livres do polissacarídeo.

A capacidade de complexar-se com a quitosana, através de interações entre os grupos amino da quitosana e carboxil da xantana, possibilita a obtenção de matrizes que apresentam elevada absorção de soluções aquosas e com estabilidade comprovada em fluidos biológicos [41,42]. Tais características são fundamentais na aplicação como curativos e suportes tridimensionais para o cultivo celular na área de engenharia de tecidos.

Desta forma, a biocompatibilidade da goma xantana, aliada a suas características funcionais e comprovada atividade antitumoral, sinalizam o impacto da administração, de forma segura e profilática, deste biopolímero como agente ativo na composição de biomateriais.

2.2.4. Pectina

A pectina é um polissacarídeo complexo encontrado na natureza como constituinte da parede celular de plantas, sendo geralmente extraída de frutas cítricas. É uma macromolécula ramificada de alta massa molar (50 a 1000 kg/mol) com pKa variando de 2,9 a 3,2, composta por extensas regiões de homogalacturonana intercaladas com regiões de ramnogalacturonana [77,78], como mostrado na Figura 2.4. A razão de resíduos metil esterificados em relação às unidades totais de ácidos carboxílicos é chamada de grau de esterificação e classifica a pectina como de baixa metoxilação quando abaixo de 50%, e como de alta metoxilação quando acima de 50% [77-79]. O uso de pectina em biomateriais está associado à sua capacidade de formação de gel, e esta depende fortemente do grau de esterificação [77,78]. Pectinas muito esterificadas formam gel em meios levemente ácidos na presença de sacarose como co-soluto, e esta gelificação ocorre, provavelmente, em decorrência da formação de pontes de hidrogênio e de interações hidrofóbicas [78]. Pectinas com baixa esterificação formam gel na presença de íons divalentes e trivalentes como o cálcio e o alumínio, respectivamente, que são capazes de formar pontes entre grupos carboxílicos pertencentes a cadeias diferentes de pectina próximas fisicamente [78,79].

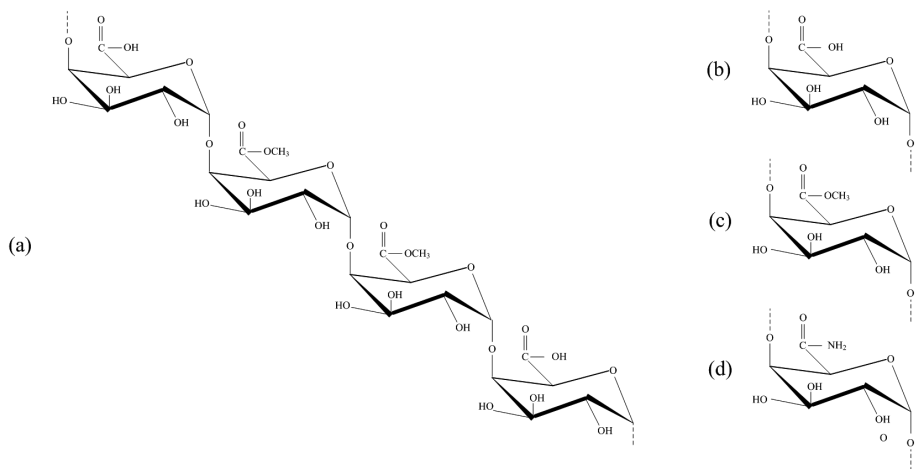


Figura 2.4. Segmento repetitivo na molécula de pectina (a) e grupos funcionais carboxila (b); éster (c); amida (d) na cadeia de pectina (adaptação de Sriamornsak [79]).

A pectina, devido a seu caráter aniônico, é capaz de formar complexos polieletrólitos com outros polímeros catiônicos como a quitosana [78,80], a etilcelulose [81] e a gelatina [82].

As aplicações biomédicas da pectina são atribuídas à facilidade de se ajustar suas propriedades físicas, a sua alta capacidade de intumescimento e a sua habilidade de imobilização de células, genes, proteínas, fármacos e fatores de crescimento [78], de maneira similar ao que se verifica para o alginato. Comercialmente já estão disponíveis curativos dérmicos que utilizam pectina em sua formulação, como os hidrocolóides adesivos Combiderm®, Duoderm®, Granuflex®, Hydrocoll® e Tegaserb® [78]. Ainda em fase de pesquisa encontram-se diversos trabalhos sobre seu uso na regeneração de tecidos, como *scaffolds*, principalmente de tecidos ósseos [83-86]. Entretanto, a aplicação deste polissacarídeo em dispositivos de liberação de fármacos é a mais explorada, devido a propriedades tais como mucoadesividade, capacidade de dissolução em meio básico e habilidade de formação de gel em meios ácidos e na presença de íons di e trivalentes [78]. Dispositivos desenvolvidos para a aplicação por via nasal [87], oral [80,81], ocular [88], gastrointestinal [89,90], e para o tratamento de câncer [91] já foram descritos.

O aumento recente do número de estudos envolvendo a pectina e as diversas aplicações citadas evidenciam o potencial deste versátil polissacarídeo no futuro dos biomateriais.

2.2.5. Outros

Muitos outros polissacarídeos podem ser constituintes de biomateriais, como a celulose, o ácido hialurônico, o amido, a agarose, a carragena, a gelana, a goma guar, a galactomanana, a heparina e a dextrina. As características, aplicações e propriedades de alguns destes polissacarídeos serão abordadas a seguir.

A celulose, o biopolímero mais abundante na natureza, é composta de uma cadeia linear de unidades de D-glicose unidas por ligações β -D-1,4. Em geral, é utilizada na composição de biomateriais devido às propriedades mecânicas elevadas em comparação com outros polissacarídeos e a sua alta estabilidade térmica [92]. Em sua forma nativa apresenta alta cristalinidade e rigidez, sendo insolúvel em água e soluções aquosas, implicando na necessidade de derivatização de sua estrutura [93]. Seus derivados têm sido amplamente estudados para aplicação em diálise, na encapsulação de agentes ativos, em suturas e curativos [94]. Aquacel[®] (ConvaTec) e Curatec[®] Hidrocolóide (LM Farma), compostos de carboximetilcelulose, e Promogran[™] (Johnson & Johnson), composto de celulose regenerada oxidada e colágeno, são exemplos de curativos obtidos a partir de derivados da celulose [93].

O ácido hialurônico (HA) é um mucopolissacarídeo natural, inicialmente extraído do humor vítreo bovino, de cordões umbilicais e da crista de galináceos, produzido hoje por fermentação bacteriana em larga escala e com alto grau de pureza [95,96]. O HA desempenha um papel importante na reparação de tecidos [95] e sua estrutura consiste de resíduos alternados de ácido D-glicurônico e N-acetil-D-glicosamina. Uma promissora aplicação do HA refere-se ao campo da viscosuplementação. Neste caso, este composto pode ser empregado como agente lubrificante e absorvedor de impactos, sendo injetado diretamente no líquido interno

das juntas de pacientes com osteoartrite, melhorando o desempenho das articulações [97]. Este polímero também tem sido utilizado em cirurgias oftalmológicas para prevenir o ressecamento da córnea e em injeções intravítreas em, por exemplo, perfurações do globo ocular [98]. Por este motivo, seu uso tem sido bastante explorado para a preparação de géis visando à liberação controlada de fármacos para utilização ocular, mas aplicações também em outras cavidades como nasal, vaginal, pulmonar e parenteral [98] são relatadas. Na engenharia de tecidos, sua aplicação é dirigida principalmente a cartilagens e ossos [13]. Entretanto, este polímero apresenta baixas propriedades biomecânicas em sua forma nativa e diversas modificações químicas têm sido desenvolvidas visando à obtenção de materiais mais robustos do ponto de vista mecânico e químico [93]. Na área de curativos há também aplicações deste composto. Hyalofill[®], Hyalogran[®], e Ialuset[®] são exemplos de curativos impregnados com soluções de HA.

O amido é o principal polissacarídeo de reserva das plantas e é composto de uma mistura de dois homopolímeros de unidades de D-glicopiranosil unidas por ligações α -D-1,4 e α -D-1,6 chamados amilose (20-30%) e amilopectina (70-80%) [13,99,100]. O amido puro apresenta desvantagens como a baixa resistência mecânica e a dificuldade de processamento, visto que este é um polímero sensível à umidade. Por este motivo é geralmente estudado na formação de blendas com outros polímeros [101]. Sua aplicação em biomateriais é relatada na produção de partículas, microcápsulas e *scaffolds* e frequentemente são empregados seus derivados como hidroxietilamido, carboximetilamido e acetilamido [99,100].

A agarose é um polissacarídeo linear extraído de algas capaz de formar géis termorreversíveis em água [102]. Sua estrutura consiste em unidades (1 \rightarrow 3)- β -D-galactopiranosila e (1 \rightarrow 4)-3,6-anidro- α -L-galactopiranosila ligadas alternadamente [13]. Este polissacarídeo apresenta estrutura tridimensional na forma de dupla hélice estabilizada por múltiplas pontes de hidrogênio, que contribuem para a rigidez das cadeias poliméricas. É utilizada na engenharia de tecidos como suporte de crescimento de condrócitos e células-tronco para reparação de cartilagens [102,103].

A carragena, extraída de algas vermelhas, é formada por poligalactanos, que são polímeros sulfatados de moléculas de D-galactose e 3,6-anidro-D-galactose [104,105]. Em função do conteúdo e distribuição dos grupos de ésteres sulfatados, a carragena pode ser classificada em iota, kappa e lambda [13]. O uso de carragena em materiais biocompatíveis vem sendo estudado devido a sua capacidade de gelificação, estabilidade em variados solventes e atoxicidade. Este polissacarídeo é usado para a liberação de fármacos e também em engenharia de tecidos [13,105].

Existem ainda outros tipos de polissacarídeos, com diferentes estruturas químicas e propriedades físicas, que também apresentam potencialidade de aplicação na constituição de biomateriais para as áreas de engenharia de tecidos, liberação controlada e viscosuplementação, dentre outras aplicações terapêuticas. Alguns exemplos específicos de aplicações dos polissacarídeos de uso mais comum serão detalhados a seguir.

2.3. Exemplos de aplicação

Neste item serão abordados alguns exemplos de aplicações dos polissacarídeos na produção de dispositivos biomédicos, como curativos para aplicação em lesões de pele, matrizes úteis como suporte na engenharia de tecidos, dispositivos de prevenção de adesão peritoneal, nano e micropartículas para encapsulamento de agentes ativos.

2.3.1. Desenvolvimento de curativos para aplicação em lesões de pele

Atualmente são conhecidos diversos tipos de curativos para o tratamento de lesões de pele, desde curativos tradicionais como gaze, pomadas e ataduras, aos curativos bioativos, que liberam substâncias ativas durante a cicatrização da ferida e agem diretamente nas camadas da pele, acelerando o processo de recuperação do tecido.

Curativos convencionais atuam apenas como cobertura passiva da ferida, mantendo-a protegida do ambiente. Entretanto, idealmente um

curativo deve não apenas proteger a lesão, mas também promover o processo de cicatrização, proporcionando um microambiente adequado, hidratado e com isolamento térmico, removendo o excesso de exsudato e promovendo as trocas gasosas [21,106]. Neste contexto, propostas de terapias alternativas que busquem o restabelecimento mais rápido e efetivo da pele lesada são de grande relevância.

O uso de polissacarídeos naturais, isolados ou combinados entre si ou com materiais de origem sintética, como matéria-prima de curativos dérmicos tem sido uma escolha bastante comum nos últimos anos, uma vez que estes materiais apresentam numerosas variações em sua estrutura, composição e função [93]. Vários tipos de curativos encontram-se disponíveis atualmente no mercado, muitos deles contendo polissacarídeos naturais, como os indicados na Tabela 2.2.

Tabela 2.2. Exemplos de curativos disponíveis comercialmente constituídos de polissacarídeos.

Polissacarídeo	Nome comercial do curativo	Fabricante
Quitosana e derivados	Tegasorb [®]	3M Healthcare
	Tegaderm [®]	3M Healthcare
	HemCon Bandage [™]	HemCon
	Chitodine [®]	IMS
	Trauma dex [®]	Medafor
Quitina e derivados	Syvek-Patch [®]	Marine Polymer Tech
	Chitopack C [®]	Eisai Co.
	Chitopack S [®]	Eisai Co.
	Beschitin [®]	Unitika Co.
Alginato e derivados	Algicell [™]	Derma Sciences
	AlgiDERM [®]	Bard
	AlgiSite M [™]	Smith & Nephew
	Algosteril [®]	Systagenix
	Comfeel Plus [™]	Coloplast
	Curasorb [®]	Kendall Healthcare
	Curasorb Zinc [®]	Kendall Healthcare
	FyBron [®]	B. Braun Medical Inc.
	Gentell Calcium Alginate	Gentell
	Kalginat [®]	DeRoyal
	Kaltostat [™]	ConvaTec
	Maxorb [®] Extra AG	Medline
	Seasorb [®]	Coloplast Sween Corp.
	Sorbsan [™]	UDL Laboratories
Tegagen [™]	3M Healthcare	
Pectina	Combiderm [®]	ConvaTec Ltd.
	Duoderm [®]	ConvaTec Ltd.
	Granuflex [®]	ConvaTec Ltd.
	Hydrocoll [®]	Hartmann
	Granugel [®] paste	Convatec Ltd.
	CitruGel [®]	Advances medical

Visando a obtenção de um dispositivo a ser usado em terapias de lesões de pele, Wang *et al.* [107] propuseram a preparação de filmes flexíveis, insolúveis em água e com efetivo controle na liberação de materiais nele incorporados, a partir da mistura de soluções quitosana e alginato e posterior reticulação com cloreto de cálcio.

Rodrigues *et al.* [35], empregando condições controladas de adição e agitação durante a mistura de soluções poliméricas, propuseram uma metodologia escalonável de preparação de membranas de quitosana e alginato complexados a partir da estratégia utilizada por Wang *et al.* [107]. Fazendo parte do mesmo grupo de pesquisa, Bueno e Moraes [36] obtiveram membranas porosas de quitosana e alginato através da adição dos surfatantes Pluronic[®]F68 e Tween[®] 80 aos polímeros, sem a necessidade do uso de liofilização ou outros métodos onerosos.

Buscando substitutos poliméricos para o alginato na produção de tais membranas, Veiga e Moraes [41] propuseram o uso da goma xantana, relatando a obtenção de filmes estáveis e homogêneos sem necessidade de uso de agentes reticulantes. Os filmes obtidos, além de serem finos e transparentes, apresentaram maior capacidade de absorção de soluções fisiológicas (40 g de água por grama de filme).

Uma alternativa terapêutica promissora para o tratamento de lesões de pele tem sido o desenvolvimento de curativos dérmicos que associam filmes poliméricos com células dérmicas e epidérmicas provenientes de biópsias ou de células multipotentes. As membranas densas obtidas através da complexação entre quitosana e xantana, assim como as porosas, obtidas dos mesmos biopolímeros em mistura com o tensoativo Pluronic[®]F68, apresentam características físico-químicas e biológicas favoráveis para a cobertura de lesões de pele e adequada arquitetura para o cultivo de fibroblastos e células multipotentes, atributos tidos como ideais para um curativo bioativo avançado [42]. O aspecto típico destas e de algumas das membranas obtidas pela combinação de quitosana com diferentes polissacarídeos aniônicos são mostrados na Figura 2.5.

Uma técnica que tem recebido atenção na produção de curativos dérmicos e sido fundamental na terapia de infecções é a incorporação de agentes bioativos às matrizes poliméricas. Estes agentes podem ser

incorporados aos biomateriais em várias etapas do processo de produção, utilizando diferentes estratégias, podendo estar ligados, dispersos ou dissolvidos na estrutura dos filmes [108]. Os agentes podem ser adicionados isolados ou em conjunto, durante o processo de mistura dos polímeros ou previamente em uma das soluções poliméricas, ou ainda, após a complexação dos polímeros. Agentes ativos podem ainda serem incorporados nas matrizes utilizando fluidos supercríticos [109], um processo que recentemente começou a receber mais atenção dos pesquisadores e que será mais detalhadamente abordado no Capítulo 8.

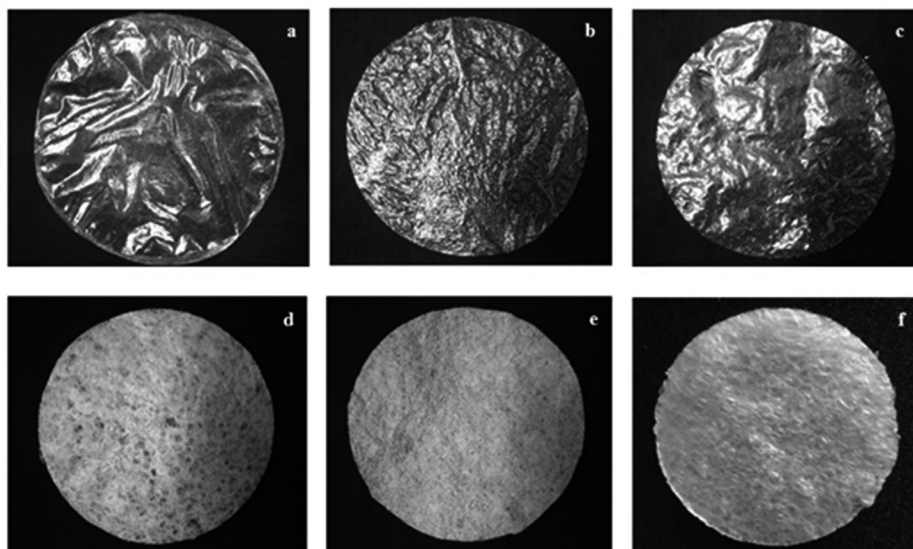


Figura 2.5. Aspectos típicos de membranas obtidas pela combinação de quitosana com diferentes polissacarídeos aniônicos: (a) alginato; (b) pectina; (c) xantana; (d) alginato/ Pluronic®F68 0,1%; (e) alginato/ Pluronic®F68 0,02%; (f) xantana/ Pluronic®F68 0,75%.

Diversos outros processos de desenvolvimento de curativos bioativos e coberturas dérmicas a partir de polissacarídeos têm sido descritos na literatura [110-113]. A busca contínua por biomateriais alternativos para a composição destes dispositivos tem, seguramente, contribuído para os avanços e para a maior eficácia do tratamento de lesões de pele nos últimos anos.

2.3.2. Obtenção de matrizes úteis como suporte celular na engenharia de tecidos

O desenvolvimento de terapias alternativas para a reparação e regeneração tecidual e a busca pelo restabelecimento da capacidade funcional de tecidos lesados são os principais objetivos da engenharia de tecidos [114]. Baseada em conhecimentos das áreas das ciências biológicas e médicas, e da engenharia e ciência de materiais, a engenharia de tecidos oferece ótimas perspectivas para a obtenção de tecidos complexos em laboratório, através da utilização de matrizes porosas tridimensionais (*scaffolds*), que servem como moldes estruturais para o crescimento celular direto [115,116].

Diversas técnicas promissoras de produção de *scaffolds* têm sido descritas. Biomateriais porosos podem ser produzidos por liofilização, por gaseificação a alta pressão, pela adição de agentes porogênicos como, glicose, NaCl e os tensoativos Pluronic® F68 e Tween® 80 [34] e ainda por processos assistidos por CO₂ supercrítico, sendo este último uma alternativa interessante aos métodos convencionais, uma vez que não requer uso de grandes quantidades de solventes orgânicos e os processos podem ser conduzidos a temperaturas moderadas [117,118].

A seleção do material a ser usado na preparação dessas matrizes é um dos principais passos a ser considerado. Alguns critérios devem ser atendidos, como não toxicidade, biodegradabilidade, biocompatibilidade, resistência mecânica compatível com a do tipo de tecido lesado, tamanho e formato adequado de poros, além de sua favorável interação com as células, de modo a permitir sua adesão, crescimento, migração e diferenciação, caso sejam requeridas [119,120].

Diferentes materiais encontram-se disponíveis para a obtenção desses suportes teciduais. No entanto, estes materiais devem ser avaliados visando averiguar seu potencial de mimetizar o ambiente extracelular, sendo este um aspecto relevante para o sucesso da reparação tecidual. Neste sentido, vários polímeros têm sido avaliados como constituintes de matrizes para o crescimento de células animais. Dentre os principais polissacarídeos empregados para este fim destacam-se a celulose e seus

derivados [106,120], a pectina [121], a heparina [122], a dextrana [30], o alginato [32-34,123], a xantana [42,74] e a quitosana, que têm despertado especial interesse na composição de *scaffolds* para regeneração de diferentes tipos de tecidos, tais como ossos [124-126], cartilagens [25,127,128], músculos [129] e pele [42,130-133].

Scaffolds porosos de quitosana [134] e quitosana combinada a polímeros naturais como gelatina [133], colágeno [131,132] e xantana [42], oferecem potencial uso como substitutos dérmicos, apresentando elevada estabilidade, biocompatibilidade e adequada estrutura para adesão e proliferação celular quando expostos a culturas de fibroblastos e queratinócitos cultivados isoladamente ou em co-cultura. Testes *in vivo* indicam ainda que tais matrizes podem favorecer a regeneração da pele. *Scaffolds* porosos de quitosana e colágeno implantados em orelhas de coelhos foram capazes de conferir apoio e proporcionar a infiltração de fibroblastos a partir do tecido lesado [135].

A engenharia de tecidos tem apresentado grandes avanços nos últimos anos, no entanto, um longo caminho ainda deve ser percorrido a fim de se alcançar seu objetivo final: a geração total ou parcial, *ex vivo*, de um órgão, em curto prazo e com fisiologia a mais próxima possível da normal [136]. Neste contexto, a produção e o desenvolvimento de novos biomateriais, fazendo uso de polímeros naturais, certamente contribuirão para a aceleração deste processo do conhecimento científico.

2.3.3. Produção de dispositivos para a prevenção de adesão peritoneal

Uma das aplicações de importância dos biomateriais na medicina é a contenção de hérnias abdominais. Diversos tipos de materiais podem ser empregados com sucesso para esta finalidade, como por exemplo, telas de poli(propileno) e de poli(tetrafluoretileno) expandido. No entanto, o uso destes dispositivos pode ocasionar a aderência indesejada entre tecidos e/ou entre órgãos como o fígado e os intestinos e a tela, resultando em dores abdominais, obstrução intestinal, infertilidade e até mesmo a morte [137,138].

Um dos tipos de adesão mais comumente verificado é o que ocorre na região peritoneal. Lesões no peritônio, resultantes, por exemplo, de intervenções cirúrgicas, podem desencadear uma resposta inflamatória local, aumentando a permeabilidade vascular e induzindo a formação de exsudatos ricos em fibrinogênio, fatores estes que predisõem a adesão do tecido no biomaterial [139].

Diferentes recursos têm sido investigados para se evitar tal complicação cirúrgica. Dentre as estratégias empregadas, pode-se citar o uso de agentes farmacológicos aliados a sistemas de barreiras físicas, com resultados altamente promissores, reduzindo a formação de aderências em vários graus em estudos pré-clínicos ou clínicos [140,141].

Sistemas de barreiras têm sido testados ou comercializados em diversas formas, incluindo o uso de soluções poliméricas [142,143], membranas [137] e hidrogéis [144,145]. Idealmente, um dispositivo de barreira deve ser fácil de usar tanto em rotinas laparoscópicas quanto em cirurgias convencionais, deve fornecer cobertura eficaz do peritônio afetado, e ainda permanecer no tecido durante todo o processo de cura [146].

Diversos polissacarídeos são utilizados para este fim, dentre eles podem ser citados a dextrana [147], a celulose e seus derivados [138], o ácido hialurônico [148-150] e a quitosana [137,145,151], que é particularmente atrativa devido a suas propriedades biológicas, como a não toxicidade e alta biocompatibilidade, além de apresentar caráter não imunogênico, podendo ser lentamente degradada após sua implantação através da ação de lisozima [23,152].

Implantes de gel de quitosana exibem comprovado efeito preventivo sobre aderências peritoneais isquêmicas ou traumáticas em animais submetidos a métodos distintos de indução de adesão peritoneal [141,144]. A aspersão de solução de N,O-carboximetil quitosana a 2% por sobre todo o peritônio antes do fechamento de cirurgias abdominais em ratas possibilita a diminuição do tamanho, número e intensidade de adesões peritoneais [153], havendo relato de sucesso também na redução da ocorrência de adesão peritoneal em coelhos submetidos a laparostomia mediante tratamento com gel e solução do mesmo composto [145], decorrente da não adesão de fibroblastos na superfície do peritônio, inibindo, assim, a formação de matriz de fibrina.

A característica de baixa adesão celular de membranas de quitosana [154] forneceu embasamento teórico para a utilização deste polímero em tratamentos que visam minimizar a formação de aderências peritoneais induzidas por telas de polipropileno. O efeito de barreira de filmes de quitosana foi confirmado em ensaios *in vivo* de indução experimental de aderências em ratos Wistar, não se observando a formação de aderências nos sistemas que associavam os filmes às telas de polipropileno [137]. Verificou-se não somente o efeito protetor dos filmes de quitosana, mas também a não exacerbação da inflamação associada às lesões peritoneais.

Nesta mesma linha de recobrimento de dispositivos biomédicos com polissacarídeos tendo-se por meta o aumento de sua biocompatibilidade pode ser citado o uso da heparina, um polissacarídeo aniônico sulfatado que, se depositada sobre biomateriais que interagem diretamente com o sangue, é capaz de evitar a coagulação sanguínea e a adesão de plaquetas. Filmes multicamadas obtidos a partir de quitosana e ácido hialurônico podem desempenhar papel semelhante, sendo utilizados no recobrimento de vasos sanguíneos danificados, inibindo a formação de coágulos na parede do tecido e promovendo reparo tecidual, tendo também atividade na redução da adesão de bactérias. O recobrimento de superfícies com O-carboximetilquitosana pode fornecer resultados similares, com a redução da adesão de proteínas e a melhoria das propriedades antitrombogênicas [155].

2.3.4. Desenvolvimento de nano e micropartículas

Nos últimos anos, tem-se observado o desenvolvimento de carreadores biodegradáveis de drogas, modificadores de textura e clareadores constituídos à base dos mais diversos polissacarídeos, conforme revisado recentemente por Jones e McClements [156]. Tais carreadores podem encapsular e proteger agentes bioativos quimicamente instáveis, tais como vitaminas, carotenóides e ácidos graxos conjugados [156]. Segundo Lemarchand *et al.* [157], carreadores polissacarídicos são vantajosos em comparação a

outros tipos de dispositivos de incorporação e liberação de drogas devido ao seu grande potencial de proteção dos ativos da degradação química ou enzimática *in vivo* [156], à sua boa estabilidade e à habilidade de controlar a liberação de drogas encapsuladas. No entanto, estes dispositivos apresentam como principal limitação o fato de não interagirem de forma específica com células e proteínas, o que pode acarretar na acumulação da droga em outros tecidos, que não os de interesse [157,158]. Desta forma, observa-se que pesquisas têm sido dirigidas ao estudo da melhora do binômio tipo de carreador/velocidade de liberação das drogas [159], estendendo-se também à modificação da superfície das partículas [157], visando o aumento da seletividade de liberação da droga no tecido-alvo. Outras áreas em avaliação enfocam o aumento da capacidade de incorporação e liberação da droga, metodologias de produção em escala industrial, estudos *in vivo* da interação das partículas com o sangue, tecido-alvos e com órgãos específicos e estudos clínicos [159].

Diversas são as estratégias para a obtenção de partículas, destacando-se os métodos que envolvem gotejamento, a formação de emulsões, a operação de *spray drying* e o uso de fluidos supercríticos seguidos por métodos de reticulação covalente, iônica e que envolvem também a complexação de polieletrólitos [159], como pode ser observado na Tabela 2.3. Dentre os polímeros mais usados na formação de partículas via reticulação covalente destaca-se a quitosana, sendo o glutaraldeído o principal agente reticulante deste polímero. No entanto, este agente reticulante tem sido substituído por compostos tais como ácido málico, tartárico, cítrico, di e tricarboxílicos, que apresentam menor toxicidade [159]. Gupta e Kumar [183] usaram tal abordagem para produzir micropartículas de quitosana reticuladas com glutaraldeído incorporando uma potente droga anti-inflamatória, o diclofenaco de sódio, que apresenta ação analgésica e antipirética. Estudos de liberação da droga em diferentes condições de pH demonstram que em pH neutro, observa-se menor liberação da droga quando comparada à liberação da droga em pH 2,0, notando-se também diferentes perfis de intumescimento do dispositivo.

Na técnica de reticulação iônica comumente usada na formação de partículas observa-se que as condições brandas de preparação de partículas

aliadas às metodologias relativamente simples têm ampliado muito o uso deste método. Dentre os poliânions mais utilizados destaca-se o cloreto de cálcio como o agente reticulante mais amplamente usado quando se faz uso de polissacarídeos carregados negativamente. Tal abordagem foi eficientemente utilizada visando a aplicação na formação de partículas de alginato para vacinação de peixes por via oral, partículas estas produzidas por emulsão seguida de reticulação com cloreto de cálcio incorporando *Aeromonas hydrophila* [161] e *Flavobacterium columnare* [165] inativadas. Tais dispositivos foram produzidos visando incorporar e proteger os antígenos das condições adversas do trato gastrointestinal de tilápias do Nilo. No primeiro trabalho, as partículas produzidas apresentaram diâmetros da ordem de 50 μm , com eficiência de incorporação de até 100%. Já no segundo estudo, observou-se que partículas de até 35 μm foram efetivamente produzidas, como pode ser observado na Figura 2.6, sendo estáveis em uma faixa de pH de 2 a 9, por até 12 horas. A associação da reticulação iônica ao processamento por *spray-dryer* pode resultar na produção de partículas ainda menores, da ordem de 10 μm [173]. Tais dispositivos foram capazes de incorporar albumina de soro bovino com eficiência de 76% e de 29% para a bacitracina, tendo características apropriadas para o uso na administração de drogas por rota pulmonar.

Partículas de quitosana contendo antioxidantes polifenólicos como a catequina foram produzidas através da reticulação com tripolifosfato de sódio [185]. Forte tendência de agregação foi observada quando as partículas foram liofilizadas, no entanto, análises de calorimetria exploratória diferencial (DSC) e espectroscopia no infravermelho (FTIR) indicaram a presença de fracas interações estruturais entre a droga e a matriz da quitosana. Apesar disso, a eficiência de incorporação foi considerada satisfatória, entre 27 a 40%, obtendo-se partículas cujos tamanhos variaram de 4 para 6 μm ao se incorporar o agente ativo. Os estudos de liberação da droga em condições simulando as do trato gastrointestinal mostraram forte dependência das interações entre a droga e a matriz, visto que a quantidade de droga liberada máxima foi de 40%.

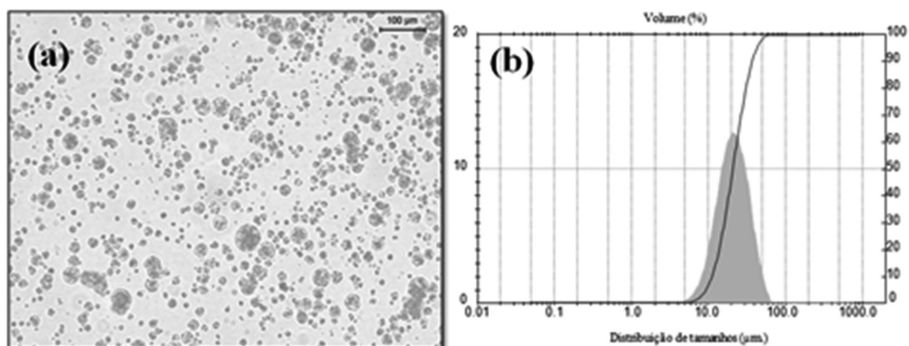


Figura 2.6. Aspecto morfológico típico de partículas de alginato contendo *Flavobacterium columnare* formadas através do método de emulsão (a) e o perfil típico de distribuição de tamanhos destas partículas (b) [48]

Partículas de polissacarídeos também podem ser obtidas com sucesso pela técnica de complexação de polieletrólitos, em que se observa a interação eletrostática intermolecular de polímeros de carga oposta, sendo que a formação destas matrizes é restrita ao uso de polímeros solúveis em água. Lucinda-Silva *et al.* [174] fizeram uso de tal estratégia para produzir cápsulas de alginato e quitosana contendo triancilona para ser administrada na região do cólon. Tais partículas apresentaram diâmetros de aproximadamente 1,6 mm, com baixo grau de intumescimento e pouca liberação da droga em pH 1,2. Por outro lado, quando em pH neutro, o grau de intumescimento foi muito maior, observando-se erosão do dispositivo, com liberação total da droga dentro de 6 horas. Curiosamente, ensaios *in vivo* mostraram que as partículas passaram praticamente intactas pela região do estômago, não se verificando a mesma taxa de intumescimento observada nos ensaios *in vitro*.

O efeito da massa molar da quitosana na formação de nanopartículas de 70,6 nm pelo método de complexação foi demonstrado através do trabalho de Yang e Hon [187]. Observou-se que o diâmetro das nanopartículas diminuiu à medida que os valores de viscosidade da solução polimérica também foram reduzidos. Apesar disso, foi possível incorporar o composto em estudo (fluorouracil) com eficiência de até 66%. Similarmente, pode-se também realizar a formação de partículas de alginato pela complexação

simultânea com quitosana para a incorporação de ácido 5-aminosalicílico [191]. A quitosana apresentou forte tendência de se alojar predominantemente na parede externa das partículas, enquanto que o alginato apresentou uma distribuição mais homogênea na estrutura da matriz formada. Estudos de liberação *in vitro* em condições simuladas relativas ao pH, quantidade de sal e enzimas *in vivo* produziram expoentes difusionais da equação de liberação exponencial anômalo, ou seja, não Fickiano, para o transporte da droga liberada.

A estratégia de coacervação simultânea de polissacarídeos foi já também empregada para a complexação de quitosana e pectina, visando à incorporação de triamcinolone, observando-se que a droga não foi prematuramente liberada no meio [193]. A adição de polímeros gástrico-resistentes como o ftalato de hidroxipropilmetil celulose e ftalato acetato de celulose resulta em alto controle da liberação da droga no meio (1,33%), enquanto que para partículas formadas sem o uso destes componentes verifica-se maior liberação da droga (45,52%), em pH ácido, após duas horas.

Com base em tais resultados, nota-se o crescente emprego de polissacarídeos na formação de dispositivos nano e microparticulados incorporando diferentes ativos usados nas mais variadas rotas de administração, o que dá ainda maior sustentação à possibilidade de uso comercial destes sistemas.

Tabela 2.3. Estratégias de obtenção e características de sistemas particulados à base de polissacarídeos incorporando agentes bioativos.

Polissacarídeo	Método de obtenção das partículas	Agente ativo	Eficiência de incorporação (%)	Diâmetro (um)	Referência
Alginato	Emulsão seguida de gelificação com CaCl ₂	BSA ou BSA marcada com FITC	70-100	13	160
		<i>Aeromonas hydrophila</i> inativada	100	50	161
	Emulsão seguida de reticulação de alginato pelos métodos de ajuste interno e difusão com CaCO ₃	Óleo de açafrão	0,78-10	0,263-0,677	162
		Isoniazida	91	1-14	163
		Paclitaxel	35-61	5	164
		<i>Flavobacterium columannare</i> inativado	99	35	165
Emulsão seguida de reticulação de alginato pelos métodos de ajuste interno e difusão com CaCO ₃	Lactoglobulina	NM	2000	166	
	-	-	75-547	167	
Alginato/Quitosana	Gotejamento seguido de gelificação ionotrópica com CaCl ₂	Sulfonato de poliestireno de sódio	2	1000-2000	168
		Ions metálicos	NM	1200-3000	169
	Gelificação ionotrópica com CaCl ₂ seguida de reticulação com poli-L-lisina	Óleo de girassol	NM	3000	170
		Oligonucleotídeo	33-49	0,13-143	171
Pectina	<i>Spray drying</i>	Trandrolapril	NM	-	172
		BSA e bacitracina	76 (BSA) e 29 (bacitracina)	8	173
		Triancilona	5-40	1600	174
Pectina	Gotejamento seguido de reticulação com NaOH	Hesperidina	NM	-	175
		Diclofenaco de sódio	63-80	1000-2000	176
		-lactoglobulin	NM	-	177
Pectina	Gotejamento de pectina tiolada seguido de gelificação ionotrópica com MgCl ₂	Lactoferrina	NM	0,110	178
		Maleato de timolol	94%	0,237	88

Tabela 2.3. Estratégias de obtenção e características de sistemas particulados à base de polissacarídeos incorporando agentes bioativos (continuação).

Polissacarídeo	Método de obtenção das partículas	Agente ativo	Eficiência de incorporação (%)	Diâmetro (µm)	Referência
Pectina/Quitosana	Reticulação com CaCl ₂ e recobrimento com quitosana por gotejamento	Indometacina e sulfametoxazol	82-98 para a indometacina e 67 e 82 para o sulfametoxazol	2000	179
	Gotejamento e reticulação com quitosana e CaCl ₂	BSA	NM	-	180
	Gotejamento seguido de reticulação com CaCl ₂ ou tripolifosfato de sódio	BSA	18-52	200	181
Pectina	Tratamento térmico de complexos eletroestáticos proteína/polissacarídeo	β-lactoglobulina	NM	0,1-0,43	182
Pectina/Quitosana	Gotejamento seguido de reticulação com zinco	Resveratrol	96-98	-	80
Quitosana	Gotejamento e reticulação com NaOH e glutaraldeído	Diclofenaco de sódio	NM	100-500	183
	Coacervação complexa com NaOH	DNA plasmidial marcado com proteína verde fluorescente	NM	0,1-0,3	184
	Emulsão seguida de gelificação com tripolifosfato de sódio	Antioxidantes polifenólicos	27-40	1-7	185
	<i>Spray-drying</i>	Sulfato de terbutalina	NM	4-8	186
	Emulsão acoplada a reticulação com tripolifosfato de sódio	Fluorouracil	28-66	0,07-0,11	187
Quitosana/Ácido hialurônico	Evaporação do solvente	Gentamicina	13-46	20-30	188
	Extrusão	Sulfatiazol	NM	1000-2000	189
	Precipitação/coacervação	Ovalbumina	40-80	0,64-0,96	190
	<i>Spray-drying</i> associado com complexação/gelificação com CaCl ₂	Ácido 5-aminossalicílico	55-76	6-8	191
Quitosana/ Hidroxipropil-metilcelulose	<i>Spray-drying</i>	Ácido 5-aminossalicílico	NM	-	192
	Coacervação complexa	-	NM	2000	193
	Gotejamento seguido de reticulação com tripolifosfato de sódio	Paclitaxel	16	-	194
	Sonicação e liofilização	Cloridrato doxorubicina	75-79	0,15	195
	Evaporação do solvente	Paclitaxel	25	-	196
Quitosana/Ácido metacrílico	Emulsão seguida de gelificação com NaOH	Cloridrato doxorubicina	67	-	197

BSA - Albumina de soro bovina; FITC: isotocianato de fluoresceína; NM: não mencionado.

2.4. Considerações finais

Os biomateriais modernos estão evoluindo rapidamente: de simples implantes a dispositivos mais complexos, que não apenas desempenham papéis estruturais e mecânicos no corpo, mas também podem interagir com ele, e até mesmo direcionar a resposta fisiológica em relação a determinada deficiência. Esta grande evolução deve-se, em parte, ao ganho de conhecimento sobre o corpo humano ao nível celular, em particular, sobre as interações dos tecidos com diferentes materiais [198].

Apesar dos avanços obtidos no campo dos biomateriais, grande parte dos produtos desenvolvidos em laboratório ainda não são produzidos em larga escala. Para este fim, a comunicação interdisciplinar entre diferentes campos do conhecimento aparentemente não relacionados deve ser ainda mais intensificada [1].

Além disso, a história da indústria dos biomateriais mostra que o fornecimento de produtos eficazes não é suficiente para garantir sucesso comercial. Além de bom desempenho clínico, a complexidade do dispositivo deve ser a mínima possível, de modo a diminuir os custos de produção e a relação custo-benefício [7].

No futuro, o desenvolvimento destes materiais, em particular os oriundos de polissacarídeos, abrirá ainda novas perspectivas de aplicação devido às suas propriedades específicas como renovabilidade, biodegradabilidade e, em alguns casos, atividade biológica [11].

2.5. Bibliografia

- [1] S. C. G. Leeuwenburgh, J. A. Jansen, J. Malda, W. A. Dhert, J. Rouwkema, C. A. van Blitterswijk, C. J. Kirkpatrick, D. F. Williams, *Biomaterials*. 2008, 29, 3047-3052.
- [2] D. F. Williams, *Biomaterials*. 2009, 30, 5897-5909.
- [3] J. B. Park, J. D. Bronzino, *Biomaterials: Principles and applications*, CRC Press: Boca Raton, Florida, EUA, 2003.
- [4] B. D. Ratner, A. S. Hoffman, F. J. Schoen, J. E. Lemons, *Biomaterials science - an introduction to materials in medicine*. Academic Press: San Diego, California, EUA, 1996.
- [5] B. D. Ratner, A. S. Hoffman, F. J. Schoen, J. Lemons, *Biomaterials science*, 2nd Edition. Elsevier Academic Press: San Diego, California, EUA, 2004.

- [6] Markets and Markets. Global biomaterials market (2010-2015), 2011 (disponível em www.marketsandmarkets.com. Último acesso em 05/09/2012).
- [7] E. S. Place, N. D. Evans, M. M. Stevens, *Nat. Mater.* 2009, 8, 457-470.
- [8] M. J. Lysaght, A. Jaklenec, E. Deweerdt, *Tissue Eng. Part A.* 2008, 14(2), 305-315.
- [9] Y. Habibi, L. A. Lucia, *Polysaccharide building blocks. A sustainable approach to the development of renewable biomaterials*, John Wiley & Sons: Hoboken, New Jersey, EUA, 2012.
- [10] T. H. Silva, A. Alves, B. M. Ferreira, J. M. Oliveira, L. L. Reys, R. J. F. Ferreira, R. A. Sousa, S. S. Silva, J. F. Mano, R. L. Reis, *Int. Mater. Rev.* 2012, 57(5), 276-306.
- [11] M. Rinaudo, *Polym. Int.* 2008, 57, 397-430.
- [12] Z. Liu, Y. Jiao, Y. Wang, C. Zhou, Z. Zhang, *Adv. Drug Delivery Rev.* 2008, 60, 1650-1662.
- [13] P. B. Malafaya, G. A. Silva, R. L. Reis, *Adv. Drug Delivery Rev.* 2007, 59, 207-233.
- [14] L. Yang, L. M. Zhang, *Carbohydr. Polym.* 2009, 76, 349-361.
- [15] M. Rinaudo, *Macromol. Symp.* 2006, 245-246, 549-557.
- [16] J. K. F. Suh, H. W. T. Matthew, *Biomaterials.* 2000, 21, 2589-2598.
- [17] K. M. Manjanna, T. M. P. Kumar, B. Shivakumar, *Int. J. Chem. Tech. Res.* 2010, 2(1), 509-525.
- [18] A. M. A. Dias, M. E. M. Braga, I. J. Seabra, H. C. de Sousa, In: R. M. N. Jorge, J. M. R. S. Tavares, M. P. Barbosa, A. P. Slade, *Lecture notes in computational vision and biomechanics. Technologies for medical sciences. Volume 1.* Springer, 2012.
- [19] M. Bhamidipati, A. M. Scurto, M. S. Detamore, *Tissue Eng. Pt. B-Rev.* 2013, 19(3), 221-232.
- [20] R. A. A. Muzzarelli, *Natural chelating polymers: Alginate acid, chitin and chitosan*, Pergamon Press Ltda: Oxford, 1973.
- [21] R. Jayakumar, M. Prabakaran, P. T. Sudheesh Kumar, S. V. Nair, H. Tamura, *Biotechnol. Adv.* 2011, 29, 322-337.
- [22] C. Chatelet, O. Damour, A. Domard, *Biomaterials.* 2001, 22, 261-268.
- [23] M. L. Alves da Silva, A. Crawford, J. M. Mundy, V. M. Correlo, P. Sol, M. Bhattacharya, P. V. Hatton, R. L. Reis, N. M. Neves, *Acta Biomater.* 2010, 6, 1149-1157.
- [24] C. Wiegand, U. C. Hipler, *Macromol. Symp.* 2010, 294-II, 1-13.
- [25] G. R. Ragety, D. J. Griffon, H. B. Lee, L. P. Fredericks, W. Gordon-Evans, Y. S. Chung, *Acta Biomater.* 2010, 6, 1430-1436.
- [26] D. W. Kimmel, G. LeBlanc, M. E. Meschievitz, D. E. Cliffler, *Anal. Chem.* 2012, 84, 685-707.
- [27] R. A. A. Muzzarelli, F. Greco, A. Busilacchi, V. Sollazzo, A. Gigante, *Carbohydr. Polym.* 2012, 89, 723-739.
- [28] W. Paul, C. P. Sharma, *Trends Biomater. Artif. Organs.* 2004, 18, 18-23.
- [29] M. N. V. R. Kumar, *React. Funct. Polym.* 2000, 46, 1-27.
- [30] Y. Kikuchi, H. Fukuda, *Makromol. Chem.* 1974, 175, 3593-3596.
- [31] H. Fukuda, Y. Kikuchi, *Bull. Chemical Soc. Japan.* 1978, 51, 1142-1144.
- [32] L. Wang, E. Khor, A. Wee, L.Y. Lim, *J. Biomed. Mater. Res.* 2002, 63, 610-618.
- [33] H. L. Lai, A. Abu'khalil, D. Q. M. Craig, *Int. J. Pharm.* 2003, 251, 175-181.
- [34] M. George, T. E. Abraham, *J. Controlled Release.* 2006, 114, 1-14.

- [35] A. P. Rodrigues, E. M. S. Sanchez, A. C. Costa, A. M. Moraes, *J. Appl. Polym. Sci.* 2008, 109, 2703-2710.
- [36] C. Z. Bueno, A. M. Moraes, *J. Appl. Polym. Sci.* 2011, 122, 624-631.
- [37] Y. Wan, Q. Wu, S. Wang, S. Zhang, Z. Hu, *Macromol. Mater. Eng.* 2007, 292, E598-E607.
- [38] Z. She, C. Jin, Z. Huang, B. Zhang, Q. Feng, V. Xu, *J. Mater. Sci.: Mater. Med.* 2008, 19, E3545-E3553.
- [39] Y. Yin, Z. Li, Y. Sun, K. Yao, *J. Mater. Sci.* 2005, 40, E4649-E4652.
- [40] A. F. Eftaiha, M. I. El-Barghouthi, I. S. Rashid, M. M. Al-Remawi, *J. Mater. Sci.* 2009, 44, 1054-1062.
- [41] I. G. Veiga, A. M. Moraes, *J. Appl. Polym. Sci.* 2012, 124, E154-E160.
- [42] M. Z. Bellini, A. L. R. Pires, M. O. Vasconcelos, A. M. Moraes, *Appl. Polym. Sci.* 2012, 125, E421-E431.
- [43] T. Jiang, S. P. Nukavarapu, M. Deng, E. Jabbarzadeh, M. D. Kofron, S. B. Doty, W. I. Abdel-Fattah, C. T. Laurencin, *Acta Biomater.* 2010, 6, 3457-3470.
- [44] C. L. Salgado, E. M. S. Sanchez, J. F. Mano, A. M. Moraes, *J. Mater. Sci.* 2012, 47, 659-667.
- [45] T. Coviello, P. Matricardi, C. Marianecchi, F. Alhaique, *J. Controlled Release.* 2007, 119, 5-24.
- [46] C. H. Goh, P. W. S. Heng, L. W. Chan, *Carbohydr. Polym.* 2012, 88, 1-12.
- [47] H. Y. Kawaguti; H. H. Sato, *Quim. Nova* 2008, 31, 134-143.
- [48] P. S. C. Sacchetin, Incorporação de *Flavobacterium columnare* inativado em micropartículas de alginato e quitosana para a imunização de tilápia do Nilo (*Oreochromis niloticus*) por via oral. Faculdade de Engenharia Química, Universidade Estadual de Campinas, 2009.
- [49] R. Censi, P. Di Martino, T. Vermonden, W. E. Hennink, *J. Controlled Release.* 2012, 161, 680-692.
- [50] J. L. Drury, D. J. Mooney, *Biomaterials.* 2003, 24, 4337-4351.
- [51] M. Hartmann, M. Dentinib, K. I. Drageta, G. Skjåk-Bræk, *Carbohydrate Polymers* 2006, 63, 257-262.
- [52] M. T. Cook, G. Tzortzis, D. Charalampopoulos, V. V. Khutoryanskiy, *J. Controlled Release.* 2012, 162, 56-67.
- [53] C. A. García-González, M. Alnaief, I. Smirnova, *Carbohydr. Polym.* 2011, 86, 1425- 1438.
- [54] K. Y. Lee, D. J. Mooney, *Prog. Polym. Sci.* 2012, 37, 106-126.
- [55] D. Poncelet, V. Babak, C. Dulieu, A. Picot, *Colloid Surface A.* 1999, 155, 171-176.
- [56] K. Y. Lee, S. H. Yuk, *Prog. Polym. Sci.* 2007, 32, 669-697.
- [57] S. Y. Rabbany, J. Pastore, M. Yamamoto, T. Miller, S. Rafii, R. Aras, *M. Penn, Cell Transplant.* 2010, 19, 399-408.
- [58] C. Wiegand, T. Heinze, U.C. Hipler, *Wound Repair Regener.* 2009, 17, 511-521.
- [59] S. M. Jay, W. M. Saltzman, *J. Controlled Release.* 2009, 134, 26-34.
- [60] C. H. Chang, Y. H. Lin, C. L. Yeh, Y. C. Chen, S. F. Chiou, Y. M. Hsu, Y. S. Chen, C. C. Wang, *Biomacromol.* 2010, 11, 133-142.
- [61] A. Bejenariu, M. Popa, D.L. Cerf, L. Picton, *Polym. Bull.* 2008, 61, 631-641.
- [62] C. R. R. Carignatto, K. S. M. Oliveira, V. M. G. Lima, P. Oliva-Neto, *Indian J. Microbiol.* 2011, 51(3), 283-288.

- [63] S. Rosalam, R. England, *Enz. Microb. Technol.* 2006, 39, 197-207.
- [64] A. B. Rodd, D. E. Dunstan, S. B. Ross-Murphy, D. V. Boger, *Rheologica Acta.* 2001, 40, 23-29.
- [65] F. García-Ochoa, V. E. Santos, J. A. Casas, E. Gómez, *Biotechnol. Adv.* 2000, 18, 549-579.
- [66] P. E. Jansson, L. Kenne, B. Lindberg, *Carbohydr. Res.* 1975, 45, 275-282.
- [67] J. D. Stankowski, B. E. Mueller, S. G. Zeller, *Carbohydr. Res.* 1993, 241, 321-326.
- [68] C. J. Chiou, L. P. Tseng, M. C. Deng, P. R. Jiang, S. L. Tasi, T. W. Chung, Y. Y. Huang, D. Z. Liu, *Biomaterials.* 2009, 30, 5862-5868.
- [69] H. Santos, F. Veiga, M. E. Pina, J. J. Sousa, *Euro. J. Pharm. Sci.* 2004, 21, 271-281.
- [70] C. W. Vendruscolo, I. F. Andrezza, J. L. Ganter, C. Ferrero, T. M. Bresolin, *Int. J. Pharm.* 2005, 296, 1-11.
- [71] A. Ludwig, *Adv. Drug Delivery Rev.* 2005, 57, 1595-1639.
- [72] J. Ceulemans, I. Vinckier, A. Ludwig, *J. Pharm. Sci.* 2002, 91, 1117-1127.
- [73] A. S. Kumar, K. Mody, B. Jha, *J. Basic Microbiol.* 2007, 47, 103-117.
- [74] G. A. Silva, P. Ducheyne, R. L. Reis, *J. Tissue Eng. Regen. Med.* 2007, 1, 4-24.
- [75] N. Popa, O. Novac, L. Profire, C. E. Lupusoru, M. I. Popa, *J. Mater. Sci.: Mater. Med.* 2010, 21, 1241-1248.
- [76] A. Takeuchi, Y. Kamiryu, H. Yamada, M. Eto, K. Shibata, K. Haruna, S. Naito, Y. Yoshikai, *Int. Immunopharm.* 2009, 9, 1562-1567.
- [77] A. Fellah, P. Anjukandi, M. R. Waterland, M. A. K. Williams, *Carbohydr. Polym.* 2009, 78, 847-853.
- [78] F. Munarim, M.C. Tanzi, P. Petrini, *Int. J. Biol. Macromol.* 2012, 51, 681-689.
- [79] P. Sriamornsak, *Silpakorn Univ. Inter. J.* 2003, 3, 206-228.
- [80] S. Das, A. Chaudhury, K. Y. Ng, *J. Pharm.* 2011, 406, 11-20.
- [81] C. Dhalleine, A. Assifaoui, B. Moulari, Y. Pellequer, P. Cayot, A. Lamprecht, O. Chambin, *Int. J. Pharm.* 2011, 414, 28-34.
- [82] M. Saravanan, K. P. Rao, *Carbohydr. Polym.* 2010, 80, 808-816.
- [83] P. Coimbra, P. Ferreira, H. C. de Sousa, P. Batista, M. A. Rodrigues, M. H. Gil, *Int. J. Biol. Macromol.* 2011, 48, 112-118.
- [84] A. Plewa, W. Niemiec, J. Filipowska, A. M. Osyczka, R. Lach, K. Szczubiałka, M. Nowakowska, *Eur. Polym. J.* 2011, 47, 1503-1513.
- [85] X. Ma, R. Wei, J. Cheng, J. Cai, J. Zhou, *Carbohydr. Polym.* 2011, 86, 313-319.
- [86] F. Munarim, P. Petrini, M.C. Tanzi, M. A. Barbosa, P. L. Granja, *Soft Matter.* 2012, 8, 4731-4739.
- [87] B. Luppi, F. Bigucci, A. Abruzzo, G. Corace, T. Cerchiara, V. Zecchi, *Eur. J. Pharm. Biopharm.* 2010, 75, 381-387.
- [88] R. Sharma, M. Ahuja, H. Kaur, *Carbohydr. Polym.* 2012, 87, 1606-1610.
- [89] A. Ghaffari, K. Navaee, M. Oskoui, K. Bayati, M. Rafiee-Tehrani, *Eur. J. Pharm. Biopharm.* 2007, 67, 175-186.
- [90] E. Hagesaether, M. Hiorth, S. A. Sande, *Eur. J. Pharm. Biopharm.* 2009, 71, 325-331.
- [91] V. V. Glinsky, A. Raz, *Carbohydr. Res.* 2009, 344, 1788-1791.
- [92] N. Lavoine, I. Desloges, A. Dufresne, J. Bras, *Carbohydr. Polym.* 2012, 90, 735-764.

- [93] A. Burd, L. Huang, Carbohydrates and cutaneous wound healing. In: H. G. Garg, M. K. Cowman, C. A. Hales, Carbohydrate chemistry, biology and medical applications. Elsevier Ltd., Amsterdam, 2008.
- [94] S. Dumitriu, Polymeric biomaterials, Marcel Dekker, Inc.: New York, 2002.
- [95] W. Y. J. Chen, G. Abatangelo, Wound Rep. Reg. 1999, 7, 79-89.
- [96] M. Milas, M. Rinaudo, Characterization and properties of Hyaluronic Acid (Hyaluronan). In: S. Dumitriu. Polysaccharides structural diversity and functional versatility, Marcel Dekker, Inc.: New York, 2005.
- [97] A.W.S. Rutjes, P. Jüni, B.R. da Costa, S. Trelle, E. Nüesch, and S. Reichenbach, Ann. Intern. Med. 2012, 157, 180-191.
- [98] R. D. Price, M. G. Berry, H. A. Navsaria, J. Plast. Reconstr. Aesthet. Surg. 2007, 60, 1110-1119.
- [99] C. J. Knill, J. F. Kennedy, Starch: commercial sources and derived products In: S. Dumitriu. Polysaccharides structural diversity and functional versatility, Marcel Dekker, Inc.: New York, 2005.
- [100] A. Rodrigues, M. Emeje, Carbohydr. Polym. 2012, 87, 987-994.
- [101] I. Pashkuleva, P. M. López-Pérez, H. S. Azevedo, R. L. Reis, Mater. Sci. Eng. C. 2010, 30, 981-989.
- [102] H. Y. Cheung, K. T. Lau, T. P. Lu, D. Hui, Compos. Part B. 2007, 38, 291-300.
- [103] S. M. Willerth, S. E. Sakiyama-Elbert, Combining stem cells and biomaterial scaffolds for constructing tissues and cell delivery, The Stem Cell Research Community, StemBook, ed. 2008.
- [104] S. Keppeler, A. Ellis, J.C. Jacquier, Carbohydr. Polym. 2009, 78, 973-977.
- [105] A. C. Pinheiro, A. I. Bourbon, M. A.C. Quintas, M. A. Coimbra, A. A. Vicente, Innov. Food. Sci. Emerg. 2012, 16, 227-232.
- [106] S. Wittaya-Areekul, C. Prahsarn, Int. J. Pharm. 2006, 313, 123-128.
- [107] L. Wang, E. Khor, L.Y. Lim, J. Pharm. Sci. 2001, 90, 1134-1142.
- [108] D. M. Wang, C. Y. Wang, C.Y. Chu, H. M. Yeh, AIChE Journal. 2000, 46, 2383-2394.
- [109] T. Garg, O. Singh, S. Arora, R. S. R. Murthy, Crit. Rev. Ther. Drug. 2012, 29, 1-63.
- [110] R. Krishnan, R. Rajeswari, J. Venugopal, S. Sundarajan, R. Sridhar, M. Shayanti, S. Ramakrishna, J. Mater. Sci. 2012, 23, 1511-1519.
- [111] K. Murakami, H. Aoki, S. Nakamura, M. Takikawa, M. Hanzawa, S. Kishimoto, H. Hattori, Y. Tanaka, T. Kiyosawa, Y. Sato, M. Ishihara, Biomaterials. 2010, 31, 83-90.
- [112] C. Yang, L. Xu, Y. Zhou, X. Zhang, X. Huang, M. Wang, M. Zhai, S. Wei, J. Li, Carbohydr. Polym. 2010, 82, 1297-1305.
- [113] R. A. A. Muzzarelli, Carbohydr. Polym. 2009, 76, 167-182.
- [114] I. O. Smith, X. H. Liu, P. X. Ma, WIREs Nanomed. Nanobiotechnol. 2009, 1, 226-236.
- [115] Y. Hou, C. A. Schoener, K. R. Regan, D. Munoz-Pinto, M. S. Hahn, M. A. Grunlan, Biomacromol. 2010, 11, 648-656.
- [116] C. Liu, Z. Xia, J. T. Czernuska, Chem. Eng. Res. Des. 2007, 85, 1051-1064.
- [117] A. R. C. Duarte, V. E. Santo, A. Alves, S. S. Silva, J. Moreira-Silva, T. H. Silva, A. P. Marques, R. A. Sousa, M. E. Gomes, J. F. Mano, R. L. Reis, J. Supercrit. Fluids. 2013, 79, 177-185.
- [118] E. Reverchon, S. Cardea, J. Supercrit. Fluids. 2012, 69, 97-107.

- [119] S. H. Barbanti, C. A. C. Zavaglia, E. A. R. Duek, *Polímeros: Ciência e tecnologia*. 2005, 15(1), 13-21.
- [120] D. W. Huttmacher, *Biomaterials*. 2000, 21, 2529-2543.
- [121] G. S. Macleod, J. H. Collett, J. T. Fell, *J. Controlled Release* 1999, 58, 303-310.
- [122] Y. Kikuchi, A. Noda, *J. Appl. Polym. Sci.* 1976, 20, 2561-2563.
- [123] Y. Ikada, In: S. Dumitriu. *Polysaccharides in medical applications*. Ed. Marcel Dekker, New York, 1996.
- [124] Y. Kuo, C. Yeh, J. Yang, *Biomaterials*. 2009, 30, 6604-6613.
- [125] J. Liuyun, L. Yubao, X. Chengdong, *J. Biomed. Sci.* 2009,16, 1-10.
- [126] L. Jiang, Y. Li, X. Wang, L. Zhang, J. Wen, M. Gong, *Carbohydr. Polym.* 2008, 74, 680-684.
- [127] C. R. Correia, L. S. Moreira-Teixeira, L. M. R. L. Reis, C. A. van Blitterswijk, M. Karperien, J. F. Mano, *Tissue Eng. C*. 2011, 17, 717-730.
- [128] Y. C. Kuo, Y. R. Hsu, *J. Biomed. Mater. Res. A*. 2009, 91A, 277-287.
- [129] E. Zakhem, S. Raghavan, R. Glimont, K. Bitar, *Biomaterials*. 2012, 33, 4810-4817.
- [130] T. Yang, *Int. J. Mol. Sci.* 2011, 12, 1936-1963.
- [131] K. Y. Chen, W. J. Liao, S. M. Kuo, F. J. Tsai, Y. S. Chen, C. Y. Huang, C. H. Yao, *Biomacromol.* 2009, 10, E1642-E1649.
- [132] S. R. Pajoum-Shariati, M. A. Shokrgozar, M. Vossoughi, A. Eslamifar, *Iran Biomed. J.* 2009, 13(3), 169-177.
- [133] H. Liu, J. Mao, G. Yao, L. Cui, Y. Cao, *J. Biomat. Sci. Polymer Ed.* 2004, 15(1), 25-40.
- [134] J. Ma, H. Wang, B. He, J. Chen, *Biomaterials*. 2001, 22, 331-336.
- [135] L. Ma, C. Gao, Z. Mao, J. Zhou, J. Shen, X. Hu, C. Han, *Biomaterials*. 2003, 24, 4833-4841.
- [136] H. Silva Junior, R. Borojevic, In: A. M. Moraes, E. F. P. Augusto, J. R. Castilho (Eds) *Tecnologia do cultivo de células animais: de biofármacos a terapia gênica*. Editora Roca, São Paulo, 2008.
- [137] N. M. Paulo, M. S. B. Silva, A. M. Moraes, A. P. Rodrigues, L. B. Menezes, M. P. Miguel, F. G. Lima, A. M. Faria, M. L. Lima, *J. Biomed. Mater. Res. B*. 2009, 91B, 221-227.
- [138] T. Ito, Y. Yeo, C. B. Highley, E. Bellas, C. Benitez, D. S. Kohane, *Biomaterials*. 2007, 28(6), 975-983.
- [139] G. DiZerega, J. D. Campeau, *Human Reprod.* 2001, 7(6), 547-555.
- [140] H. M. Atta, *World J. Gastroenterol.* 2011, 17, 5049-5058.
- [141] Y. Yeo, D. Kohane, *Eur. J. Pharm. Biopharm.* 2008, 68(1), 57-66.
- [142] J. Bae, K. Jim, K. Jang, *J. Vet. Med. Sci.* 2004, 66(10), 1205-1211.
- [143] M. P. J. Reijnen, E.M. Skrabut, V. A. Postma, H. V. Goor, *J. Surg. Res.* 2001, 101(2), 248-253.
- [144] Z. Zhang, S. Xu, X. Zhou, *World J. Gastroenterol.* 2006, 12(28), 4572-4577.
- [145] J. Zhou, C. Elson, T. D. G. Lee, *Surgery*. 2004, 135(3), 307-312.
- [146] D. Al-Musawi, J. N. Thompson, *Gynaecol. Endosc.* 2001, 10, 123-130.
- [147] T. Liakakos, N. Thomakos, P. M. Fine, C. Dervenis, R. L. Young, *Dig. Surg.* 2001, 18, 260-273.
- [148] G. Bajaj, M.R. Kim, S.I. Mohammed, Y. Yeo, *J. Controlled Release*. 2012, 158(3), 386-392.

- [149] Y. Yeo, T. Ito, E. Bellas, C.B. Highley, R. Marini, D. S. Kohane, *Ann. Surg.* 2007, 245(5), 819-824.
- [150] X. Jia, G. Colombo, R. Padera, R. Langer, D.S. Kohane, *Biomaterials.* 2006, 25, 4797–4804.
- [151] C. Wei, C. Hou, Q. Gu, L. Jiang, B. Zhu, A. Sheng, *Biomaterials.* 2009, 30, 5534-5540.
- [152] J. Berger, M. Reist, J.M. Mayer, O. Felt, N.A. Peppas, R. Gurny, *Eur. J. Pharm. Biopharm.* 2004, 57, 19-34.
- [153] R. Kennedy, D.J. Constain, W.C. McAlister, T.D.G. Lee, *Surgery.* 1996, 120(5), 866-870.
- [154] P. R. M. Dallan, P. L. Moreira, L. Petinari, S. M. Malmonge, M. M. Beppu, S. C. Genari, A. M. Moraes, *J. Biomed. Mater. Res. B.* 2007, 80, 394-405.
- [155] V. K. Vendra, L. Wu, S. Krishnan, *Polymer thin films for biomedical applications.* In: C. Kumar. *Nanomaterials for the life sciences Vol.5: Nanostructured thin films and surfaces*, Wiley-VCH, Weinheim, Germany, 2010.
- [156] O. G. Jones, D. J. McClements, *Adv. Colloid Interface Sci.* 2011, 167, 49–62.
- [157] C. Lemarchand, R. Gref, P. Couvreur, *Eur. J. Pharm. Biopharm.* 2004, 58, 327–341.
- [158] M. R. Kulterer , V. E. Reichel , R. Kargl , S. Köstler , V. Sarbova, T. Heinze , K. Stana-Kleinschek, V. Ribitsch, *Adv. Funct. Mater.* 2012, 22, 1749–1758.
- [159] K. H. Liu, T. Y. Liu, S. Y. Chen, D. M. Liu, *Acta Biomater.* 2008, 4, 1038–1045.
- [160] M. Leonard, M. R. Boisseson, P. Hubert, F. Dalencon, E. Dellacherie, *J. Controlled Release.* 2004, 98, 395–405.
- [161] P. Rodrigues, D. Hirsch, H. C. P. Figueiredo, P. V. R. Logato, A. M. Moraes, *Process. Biochem.* 2006, 41, 638-643.
- [162] P. Lertsutthiwong, K. Noomun, N. Jongaroonngamsang, P. Rojsitthisak, U. Nimmannit, *Carbohydr. Polym.* 2008, 74, 209–214.
- [163] R. Rastogi, Y. Sultana, M. Aqil, A. Ali, S. Kumar, K. Chuttani, A.K. Mishra, *Int. J. Pharm.* 2007, 334, 71–77.
- [164] S. Alipour, H. Montaseric, M. Tafaghodia, *Colloids Surf. B.* 2010, 81, 521–529.
- [165] P. S. C. Sacchetin, A. M. Moraes, C. A. G. Leal, H. C. P. Figueiredo, *Quim. Nova.* 2010, 33, 263-268.
- [166] Y. Li, M. Hu, Y. Du, H. Xiao, D. J. McClements, *Food Hydrocolloids.* 2011, 25, 122-130.
- [167] M. Alnaief, M. A. Alzaitoun, C. A. García-González, I. Smirnova, *Carbohydr. Polym.* 2011, 84, 1011-1018.
- [168] I. Rousseau, D. Le Cerf, L. Picton, J. F. Argillier, G. Muller, *Eur. Polym. J.* 2004, 40, 2709-2715.
- [169] R. Lagoa, J. R. Rodrigues, *Biochem. Eng. J.* 2009, 46, 320–326.
- [170] C. Hoad, P. Rayment, V. Risse, E. Cox, E. Ciampi, S. Pregent, L. Marciani, M. Butler, R. Spiller, P. Gowland, *Food Hydrocolloids.* 2011, 25, 1190-1200.
- [171] M. G. Ferreira, L. Tillman, G. Hardee, R. Bodmeier, *Int. J. Pharm.* 2002, 239, 47–59.
- [172] Z. Makai, J. Bajdik, I. Eros, K. Pintye-Hodi, *Carbohydr. Polym.* 2008, 74, 712–716.
- [173] A. Schoubben, P. Blasi, S. Giovagnoli, C. Rossi, M. Ricci, *Chem. Eng. J.* 2010, 160, 363–369.
- [174] R. M. Lucinda-Silva, H. R. N. Salgado, R. C. Evangelista, *Carbohydr. Polym.* 2010, 81, 260–268.
- [175] N. Ben-Shalom, R. Pinto, *Carbohydr. Polym.* 1999, 38, 179-182.

- [176] S. S. Badve, P. She, A. Korde, A. P. Pawar, *Eur. J. Pharm. Biopharm.* 2007, 65, 85–93.
- [177] O. G. Jones, E. A. Decker, D. J. McClements, *Food Hydrocolloids.* 2009, 23, 1312–1321.
- [178] C. Bengoechea, O. G. Jones, A. Guerrero, D. J. McClements, *Food Hydrocolloids.* 2011, 25, 1227–1232.
- [179] O. Munjeri, J.H. Collett, J.T. Fell, *J. Controlled Release.* 1997, 46, 273–278.
- [180] K. L. B. Chang, J. Lin, *Carbohydr. Polym.* 2000, 43, 163–169.
- [181] C. Y. Yu, B. C. Yina, W. Zhang, S. X. Cheng, X. Z. Zhang, R. X. Zhuo, *Colloids Surf. B.* 2009, 68, 245–249.
- [182] O. Jones, E. A. Decker, D. J. McClements, *Food Hydrocolloids.* 2010, 24, 239–248.
- [183] K. C. Gupta, M. N. V. R. Kumar, *Biomaterials.* 2000, 21, 1115–1119.
- [184] X. Zhao, S. B. Yu, F. L. Wu, Z. B. Mao, C. L. Yu, *J. Controlled Release.* 2006, 112, 223–228.
- [185] L. Zhang, S. L. Kosaraju, *Eur. Polym. J.* 2007, 43, 2956–2966.
- [186] T. P. Learoyd, J. L. Burrows, E. French, P. C. Seville, *Eur. J. Pharm. Biopharm.* 2008, 68, 224–234.
- [187] H. C. Yang, M. H. Hon, *Microchem. J.* 2009, 92, 87–91.
- [188] S. T. Lim, B. Forbes, D. J. Berry, G. P. Martin, M. B. Brown, *Int. J. Pharm.* 2002, 231, 73–82.
- [189] T. W. Wong, L. W. Chan, S. B. Kho, P. W. S. Heng, *J. Controlled Release.* 2002, 84, 99–114.
- [190] O. Borges, G. Borchard, J. C. Verhoef, A. Sousa, H. E. Junginger, *Int. J. Pharm.* 2005, 299, 155–166.
- [191] K. Mladenovska, R.S. Raicki, E.I. Janevik, T. Ristoski, M.J. Pavlova, Z. Kavrakovski, M.G. Dodov, K. Goracinova, *Int. J. Pharm.* 2007, 342, 124–136.
- [192] J. Nunthanid, K. Huanbutta, M. Luangtana-anan, P. Sriamornsak, S. Limmatvapirat, S. Puttipipatkachorn, *Eur. J. Pharm. Biopharm.* 2008, 68, 253–259.
- [193] G. F. Oliveira, P. C. Ferrari, L. Q. Carvalho, R. C. Evangelista, *Carbohydr. Polym.* 2010, 82, 1004–1009.
- [194] M. R. Saboktakin, R. M. Tabatabaee, A. Maharramov, M. A. Ramazanov, *Carbohydr. Polym.* 2010, 82, 466–471.
- [195] Q. Yuan, J. Shah, S. Hein, R.D.K. Misra, *Acta Biomater.* 2010, 6, 1140–1148.
- [196] R. Nanda, A. Sasmal, P.L. Nayak, *Carbohydr. Polym.* 2011, 83, 988–994.
- [197] J. Wang, J. Y. Zong, D. Zhao, R. X. Zhuo, S. X. Cheng, *Colloids Surf. B.* 2011, 87, 198–202.
- [198] V. Dusastre, *Nat. Mater.* 2009, 8, 439.