



APLICAÇÕES DO QUITOSANO EM LIBERTAÇÃO CONTROLADA DE FÁRMACOS: ALGUMAS CONSIDERAÇÕES

Maria José Moura

Mestre em Engenharia Química, Instituto Superior de Engenharia de Coimbra,
Instituto Politécnico de Coimbra, Portugal (mjmoura@isec.pt)

Recebido em: 04/05/2012 – Aprovado em: 15/06/2012 – Publicado em: 30/06/2012

RESUMO

Os biomateriais de base quitosano constituem uma classe emergente de materiais com grande aplicação nas áreas farmacêutica e biomédica, nomeadamente em sistemas de libertação controlada de fármacos e regeneração de tecidos. Entre os fatores motivadores deste interesse incluem-se a grande abundância do quitosano, potenciando um recurso natural economicamente atrativo, e a presença de um conjunto invulgar de propriedades químicas e biológicas de elevada utilidade para áreas específicas. O crescente interesse deste biopolímero na área farmacêutica e médica tem gerado oportunidades de desenvolvimento de biomateriais especializados, principalmente através de modificações químicas e físicas da molécula, as quais têm promovido no polímero novas atividades biológicas. Estas estratégias incluem obviamente a combinação do quitosano com outros polímeros (quer naturais quer sintéticos) e materiais inorgânicos para produção de materiais compósitos. No contexto deste trabalho não é possível falar de todas as aplicações do quitosano e dos seus derivados enquanto sistemas de libertação controlada de fármacos, mesmo que sucintamente, devido ao seu elevado número e diversidade. Assim, optou-se por considerar os aspetos mais inovadores destes sistemas, nomeadamente dos sistemas constituídos por nanopartículas e por matrizes injetáveis formadas *in situ*.

PALAVRAS-CHAVE: quitosano, libertação controlada, matrizes injetáveis, nanopartículas

CHITOSAN IN CONTROLLED DRUG DELIVERY SYSTEMS: SOME APPLICATIONS

ABSTRACT

The chitosan-based biomaterials are an emerging class of materials with great application in pharmaceutical and biomedical fields, particularly in systems for controlled drug delivery and tissue engineering. The abundance of chitosan, a natural resource economically attractive, and the presence of an unusual set of chemical and biological properties of high utility for specific areas are among the reasons why chitosan constitutes an excellent material for drug delivery. The growing interest in this biopolymer in pharmaceutical and biomedical areas has created opportunities for development of specialized materials mainly through chemical and physical modifications of its molecule, which promote new biological activities in the polymer.

These strategies include the combination of chitosan with other polymers (both natural and synthetic) and inorganic materials for producing composite materials. As is not possible to mention all the applications of chitosan and its derivatives due to their high number and variety, this review will be mainly concerned the most innovative aspects of controlled drug delivery systems, namely those consisting of nanoparticles and in situ formed injectable matrices.

KEYWORDS: chitosan; drug delivery, injectable matrices, nanoparticles

INTRODUÇÃO

O quitosano é um polissacarídeo catiónico obtido da desacetilação alcalina da quitina. A quitina, o segundo polissacarídeo mais abundante na natureza depois da celulose, é o principal constituinte do exosqueleto dos crustáceos e insetos, encontrando-se também na parede celular de certos fungos. Ambos os polímeros são constituídos por unidades de 2-acetamida-2-desoxi-D-glucopiranosose (unidade acetilada) e 2-amina-2-desoxi-D-glucopiranosose (unidade desacetilada) unidas por ligações glicosídicas $\beta(1-4)$ (KUMAR, 2000). Enquanto na quitina predominam as primeiras, no quitosano estas são substituídas, durante o processo de desacetilação, pelas segundas. A Figura 1 representa a estrutura química da quitina e do quitosano.

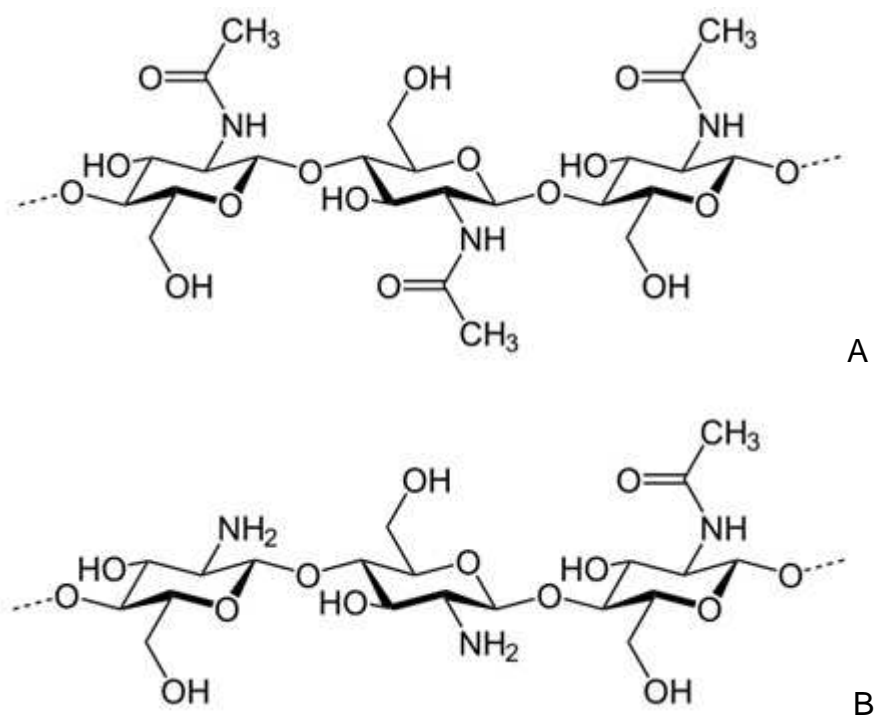


FIGURA 1 – Estrutura química da quitina, 100 % acetilada (A) e do quitosano (B).

A quitina é insolúvel em solventes aquosos e na maioria dos solventes orgânicos convencionais, sendo este o principal fator limitante à sua utilização. A solubilização do quitosano (para valores de pH inferior a 6,2), nomeadamente em soluções aquosas de ácidos orgânicos, é promovida pela protonação dos grupos NH_2 livres presentes nas unidades desacetiladas (Figura 2).

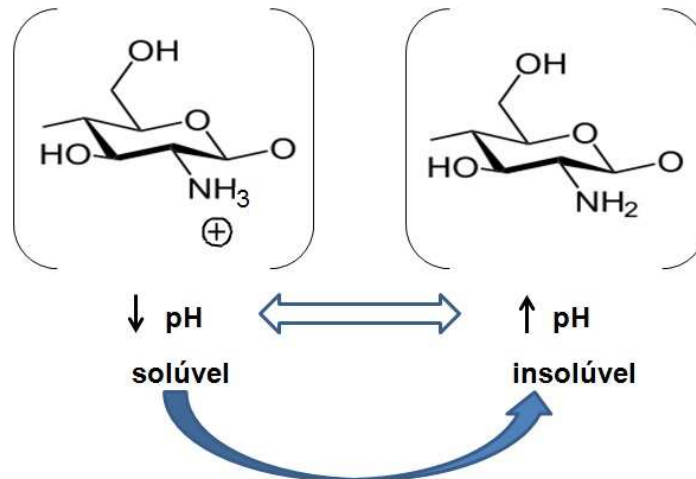


FIGURA 2 – Representação esquemática da versatilidade da molécula do quitosano. Para baixos valores de pH (inferiores a 6,2) os grupos amina do quitosano encontram-se protonados, conferindo à molécula um carácter policatiónico. Para valores de pH elevados (superiores a 6,5) os grupos amina encontram-se reativos. (adaptado de DASH et al., 2011)

Ao longo das últimas décadas o quitosano tem sido intensamente investigado e utilizado como biomaterial (KUMAR, 2000; KUMAR et al., 2004; ARANAZ et al., 2009). Um conjunto de propriedades, tais como biocompatibilidade, biodegradabilidade, bioatividade, ausência de toxicidade, propriedades de absorção, capacidade de formar membranas, bioadesividade, atividade contra fungos, bactérias e vírus e poder hemostático muito tem contribuído para esse facto. Além disso, o quitosano apresenta na sua estrutura grupos funcionais (amina e hidroxilo) que podem ser usados para promover a derivatização química das moléculas ou a sua ligação a grupos específicos. Desta forma a molécula natural pode ser modificada e, conseqüentemente, as suas características físicas e químicas alteradas e a sua aplicabilidade específica melhorada. Estas propriedades têm sido intensamente exploradas na preparação de hidrogéis para aplicações farmacêuticas e biomédicas tais como substituição de pele humana, implantes ortopédicos e periodontais, engenharia de tecidos, cicatrização de feridas, sistemas de libertação controlada de fármacos, suturas cirúrgicas, reconstituição óssea, lentes de contacto, encapsulamento de substâncias, entre outras (SANTOS et al., 2006; KUMAR, 2000; KUMAR et al., 2004; KHORA & LIM, 2003; SUH & MATTHEW, 2000).

A aplicação mais conhecida do quitosano, e de certa forma a responsável pela divulgação comercial deste polissacarídeo, tem sido a sua utilização em produtos dietéticos, mais propriamente como inibidor da digestão de gorduras. O quitosano atua através de um mecanismo de absorção de gorduras – a dissolução do polímero no estômago, em condições ácidas, provoca a emulsificação destas; ao atingir o intestino o complexo quitosano-gordura gelifica (devido ao ambiente básico) e é expulso do organismo pelas fezes, impedindo, desta forma, que as gorduras sejam absorvidas pelas paredes intestinais.

No entanto, o desenvolvimento de sistemas de libertação controlada (SLC) de fármacos constitui uma outra área de investigação onde o quitosano e os seus derivados têm revelado um potencial ilimitado.

LIBERTAÇÃO CONTROLADA DE FÁRMACOS

Os SLC têm por objetivo prolongar e melhorar o controle da administração de fármacos por forma a otimizar a sua ação terapêutica com o mínimo de efeitos colaterais. Entenda-se por “fármaco” todos os compostos bioativos administrados com intuito terapêutico, desde moléculas de baixo peso molecular a proteínas e a material genético.

As formas de administração convencionais (nebulização ou “spray”, injeção e comprimidos) permitem uma libertação rápida e indiscriminada da substância ativa. Este tipo de libertação resulta num aumento da concentração do fármaco no sangue, a qual atinge rapidamente um máximo, a que se segue uma diminuição exponencial (Figura 3). Cada fármaco possui um intervalo de ação terapêutica acima do qual esta é tóxica e abaixo do qual é ineficaz. Desta forma a manutenção da concentração dentro do intervalo terapêutico pode ser problemática. Assim, para que a concentração do fármaco seja eficaz e não tóxica, ou seja, se localize dentro do intervalo terapêutico continuamente, é necessário administra-lo várias vezes ao dia, resultando numa flutuação significativa dos seus níveis no organismo.

O objetivo dos SLC reside em manter a concentração do fármaco no organismo dentro do intervalo terapêutico por tempo prolongado, utilizando-se uma única dosagem. A Figura 3 compara os perfis de libertação de um fármaco, administrado através de um sistema convencional (por unidose e várias doses) e de um sistema de libertação controlada, em função do tempo.

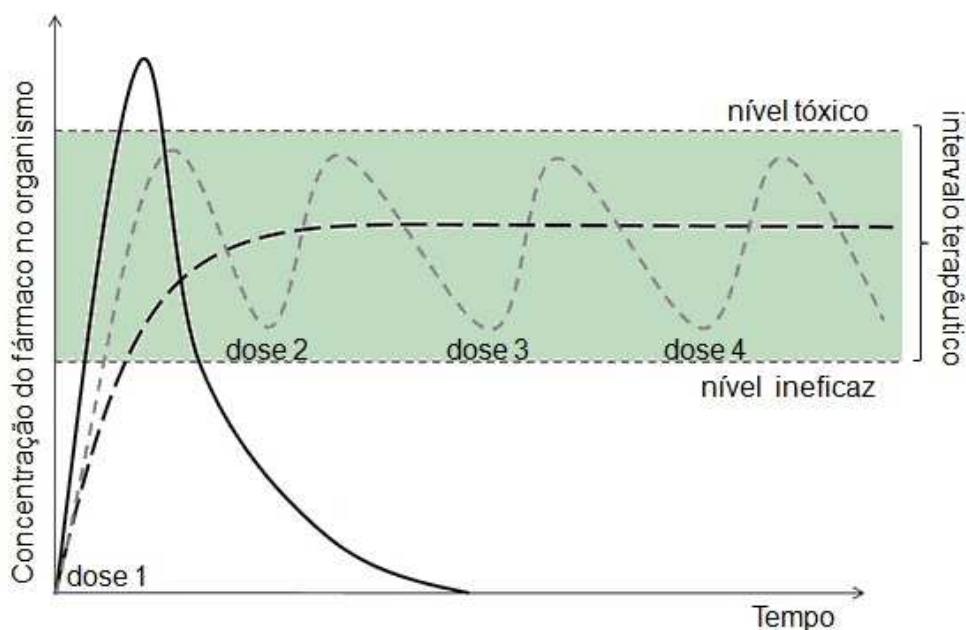


FIGURA 3 – Comparação dos perfis de libertação de um fármaco resultantes da administração de um sistema de libertação convencional por dose única (—) e várias doses (----) e de um sistema de libertação controlada (— — —). (adaptado de DASH & CUDWORTH, 1998)

Muitos são os trabalhos encontrados na literatura referentes ao desenvolvimento de sistemas poliméricos de base quitosano para libertação controlada de fármacos sob as mais diversas formas (filmes, micro e nanopartículas, matrizes injetáveis, adesivos, implantes, etc) e vocacionados para as mais diversificadas aplicações (oftalmológicas, periodontal e bucal, gástricas,

anticancerígenas) (RUEL-GARIÉPY et al., 2000; AGNIHOTRI et al., 2004; NAIR & LAURENCIN, 2006; SOKKER et al., 2009; PEDRO et al., 2009; DASH et al., 2011). Por exemplo, uma simples pesquisa no Google com as palavras-chave “*chitosan*” e “*drug delivery*” resulta em cerca de 700000 ocorrências.

Libertação de fármacos a partir de filmes

A principal aplicação dos filmes enquanto SLC é a liberação de fármacos por via transdérmica. A liberação ocorre a partir da matriz polimérica de forma contínua, sem, no entanto, atingir níveis tóxicos no organismo e danificar as células da membrana epitelial. A grande vantagem da liberação transdérmica face, por exemplo, à via oral reside na proteção do fármaco da biotransformação pré-sistêmica e da hidrólise enzimática no trato gastrointestinal (SILVA et al., 2006; RASOOL et al., 2011).

A facilidade do quitosano para ser processado na forma de filmes deu lugar às primeiras aplicações investigadas deste polímero natural. De uma forma geral, os filmes de quitosano possuem propriedades físicas e mecânicas dependentes do grau de desacetilação (percentagem de grupos amina presentes) e da massa molar do polímero, elevada flexibilidade e estabilidade e são facilmente hidratados (HWANG et al., 2003).

No campo farmacêutico são muito utilizados como sistemas de liberação controlada de fármacos e no revestimento de comprimidos (AGNIHOTRI et al., 2004; LIU & LIN, 2010; MENGATTO et al., 2012).

Adicionalmente, muitos são os trabalhos encontrados na literatura que realçam o elevado potencial dos filmes de quitosano, designadamente no tratamento de feridas cutâneas (FERREIRA et al., 2006; KIM et al., 2008). Para além do fármaco poder ser administrado de forma localizada e a liberação ocorrer progressivamente no local de ação, estas estruturas protegem a ferida, absorvem a transpiração, têm ação antibacteriana, apresentam boa compatibilidade, favorecem a cicatrização, ao estimular a proliferação de fibroblastos, não são tóxicas e proporcionam elevado conforto. A própria estrutura química do quitosano, semelhante à da matriz extracelular, reforça a utilização deste biopolímero como agente cicatrizador e reparador de tecidos.

A combinação do quitosano com colagénio, na obtenção de estruturas compósitas para regeneração de pele, também tem sido reportada na literatura (FAIKRUA et al., 2009).

Na Tabela 1 encontra-se alguns exemplos de aplicações dos filmes de quitosano e seus derivados enquanto SLC de fármacos.

Libertação de fármacos a partir de sistemas de partículas

Um dos processos utilizados para a obtenção de um SLC é a associação da substância bioativa a um sistema transportador, o qual se encarrega de a conduzir ao respetivo local de ação. Este objetivo pode ser conseguido através da encapsulação das substâncias bioativas em sistemas poliméricos, tais como micropartículas e nanopartículas, entendendo-se por nanopartícula uma partícula cujas dimensões estão compreendidas entre 1 e 100 nm (ASTM E2456-06).

Nos últimos anos, numerosos estudos têm demonstrado que a eficácia terapêutica de um fármaco pode ser modificada e melhorada pelo uso de sistemas à escala micrométrica, como micropartículas, ou de sistemas à escala nanométrica,

como lipossomas e nanopartículas (AGNIHOTRI et al., 2004; SINHA et al., 2004; CALDORERA-MOORE & PEPPAS, 2009; SAILAJA et al., 2010; WANG et al., 2011; MUFAMADI et al., 2011).

O termo partícula é genérico e, quando aplicado à liberação controlada de fármacos, refere-se a dois tipos diferentes de estruturas: cápsulas e esferas. A Figura 4 ilustra a diferença entre estes dois tipos de estrutura.

Dependendo do método de preparação, as partículas podem apresentar uma estrutura de reservatório, constituídas por um invólucro polimérico disposto ao redor de um núcleo, no qual o fármaco se encontra dissolvido ou disperso podendo também estar adsorvido na parede polimérica. Neste caso designam-se por microcápsulas ou nanocápsulas (Figura 4A). Aquelas que são constituídas por uma matriz polimérica maciça, onde o fármaco se encontra uniformemente disperso ou solubilizado são designadas por microesferas ou nanoesferas (Figura 4B).

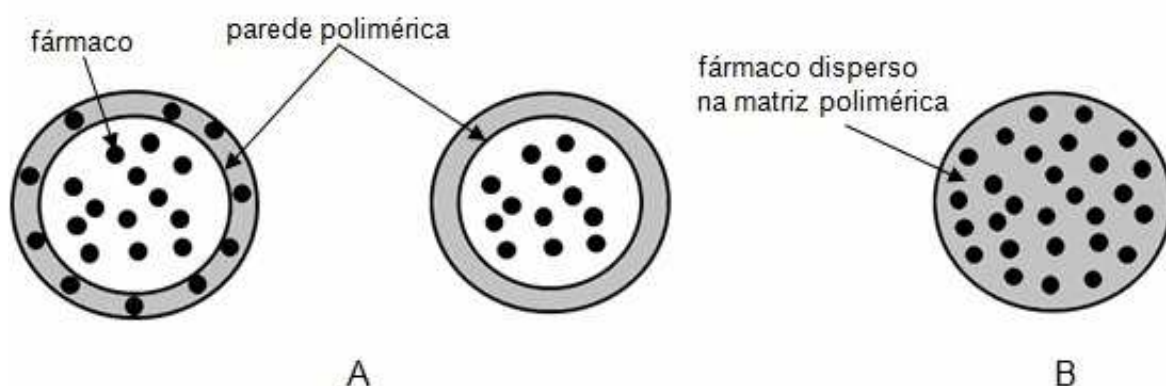


FIGURA 4 – Representação esquemática da estrutura de uma micro ou nanocápsula (A) e de uma micro ou nanoesfera (B). (adaptado de DASH & CUDWORTH, 1998)

Diversos materiais poliméricos têm sido utilizados na preparação destas partículas. Todavia, a biodegradabilidade dos polímeros é um dos requisitos fundamentais na modulação dos SLC, uma vez que é desejável que um material introduzido no organismo seja reabsorvido depois de cumprida a sua função, sem necessidade de recorrer a intervenção cirúrgica para a sua remoção (HATEFI & AMSDEN, 2002).

As vantagens decorrentes da aplicação de sistemas de partículas como transportadores de fármacos devem-se a vários fatores. Em primeiro lugar, a encapsulação do fármaco numa matriz proporciona a proteção deste contra a degradação e/ou inativação precoce. Desta forma é possível aumentar a permanência da substância bioativa na circulação sanguínea, reduzindo-se, assim, o número de doses necessárias, a quantidade de fármaco e, conseqüentemente, a toxicidade. Em segundo lugar, a liberação de forma progressiva e controlada do fármaco sustenta a manutenção de concentrações no intervalo de ação terapêutica. Por outro lado, estes sistemas podem ser administrados pelas vias convencionais de administração de medicamentos.

Relativamente aos sistemas de liberação constituídos por micropartículas, estes têm aplicação nos casos em que se pretende uma liberação local lenta e contínua, como por exemplo, em vacinas e no tratamento de doenças crônicas localizadas e são, de uma forma geral, administrados por via oral (SINHA et al.,

2004). Na verdade, devido às suas dimensões, estes sistemas não podem ser administrados por via intravenosa, ao contrário dos sistemas nanométricos, e também não são capazes de atravessar as barreiras biológicas *in vivo*. Assim, os sistemas nanométricos têm suscitado um grande interesse sobretudo em aplicações injetáveis por via intravenosa, na libertação em superfícies da mucosa, como a nasal e a ocular, e, mais recentemente, em terapia genética (WANG et al., 2011). De salientar ainda que os materiais à escala nanométrica podem apresentar propriedades físico-químicas, elétricas, termodinâmicas e comportamentais diferentes daquelas apresentadas em escalas maiores.

Os lipossomas constituíram a primeira proposta como matrizes para libertação de compostos bioativos, à escala nanométrica (MUFAMADI et al., 2011). Os lipossomas são sistemas lipídicos constituídos por fosfolípidos, os quais em meio aquoso se organizam espontaneamente em bicamadas concêntricas formando vesículas esféricas de tamanho variável (20 nm a alguns micrómetros de diâmetro). As bicamadas lipídicas estão separadas entre si por espaços aquosos, sendo também aquoso o espaço interno do lipossoma. A Figura 5 representa, de forma esquemática, o processo de formação de um lipossoma convencional com um agente bioativo encapsulado.

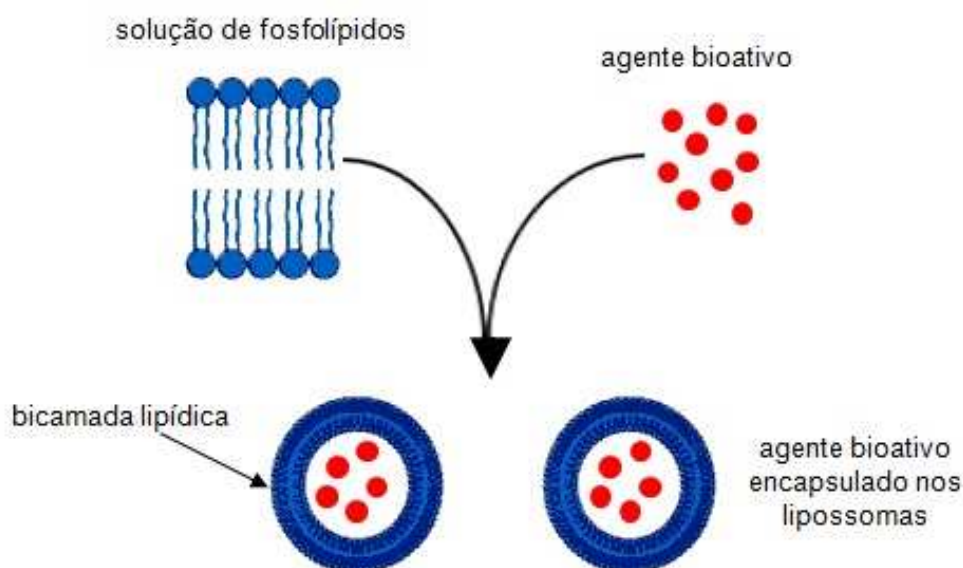


FIGURA 5 – Representação esquemática do processo de formação de um lipossoma convencional com uma substância bioativa encapsulada (adaptado de MUFAMADI et al., 2011).

Contudo, a estabilidade dos lipossomas, sob a forma líquida, é reduzida devido a fenômenos de agregação e/ou fusão e, também, ao facto dos fosfolípidos, constituintes das vesículas, sofrerem hidrólise e oxidação em meio aquoso. Os fenômenos de instabilidade das vesículas podem mesmo levar à perda do material encapsulado antes de atingido o local de libertação desejado.

Assim, o desenvolvimento de nanoesferas e nanocápsulas poliméricas constitui uma alternativa promissora aos sistemas lipossomais. O menor custo dos polímeros, em relação aos fosfolípidos, e a maior estabilidade e durabilidade são algumas das vantagens das nanopartículas poliméricas relativamente aqueles sistemas.

Adicionalmente, o uso de nanopartículas para encapsulação de fármacos de natureza proteica também tem sido reportado na literatura (DES RIEUX et al., 2006). A administração deste tipo de fármacos tem sido normalmente feita por via injetável, isto porque a administração oral resulta numa baixa biodisponibilidade, devido à instabilidade destes fármacos em ambiente gastrointestinal e à sua fraca permeabilidade através do tecido da mucosa intestinal. O aumento da biodisponibilidade quando se utilizam nanopartículas deve-se à capacidade que estas têm de proteger eficazmente o fármaco do meio físico-químico e enzimático do trato gastrointestinal e de, simultaneamente, aumentarem a absorção deste, pela promoção do transporte através da mucosa.

Vários trabalhos encontrados na literatura reportam que as nanopartículas, especialmente as de tamanho compreendido entre 10 e 100 nm, possuem um elevado potencial enquanto veículo de transporte de agentes citotóxicos. Estas partículas são capazes de circular pela corrente sanguínea sem escapar pelas paredes dos respetivos vasos. No entanto, a vascularização de um tumor sólido difere funcionalmente e morfológicamente da vascularização de um tecido normal. Os vasos sanguíneos do tumor têm, em geral, uma distribuição mais heterogênea, um diâmetro maior e são mais permeáveis. Além disso, possuem paredes com grandes poros, o que permite que as nanopartículas possam sair e, facilmente, penetrar no interior das células tumorais libertando o citostático e evitando assim destruir os tecidos sãos (ZHANG et al., 2006).

Os sistemas de partículas de base quitosano têm sido bastante estudados na modulação de SLC sobretudo porque o quitosano possui uma combinação de propriedades químicas e biológicas muito atrativas. Entre elas destacam-se a biocompatibilidade, a biodegradabilidade e a não toxicidade. Nestes sistemas, a libertação do princípio ativo depende das características físico-químicas da matriz polimérica. Assim, mediante a manipulação de parâmetros, como sejam a concentração, a massa molar e o grau de desacetilação do quitosano, ou através da sua modificação com outros polímeros e/ou materiais inorgânicos é possível obter sistemas com perfis de libertação adequados a situações específicas.

Uma das áreas onde as nanopartículas de quitosano têm despertado grande interesse é na área da libertação ocular. A entrega de fármacos a nível ocular pelas formulações tradicionais disponíveis comercialmente resulta normalmente numa biodisponibilidade do fármaco bastante baixa derivado à rápida eliminação deste do local de ação pelos mecanismos de limpeza/proteção do olho. Em contrapartida, as formulações líquidas de nanopartículas de quitosano carregadas de fármaco aumentam significativamente a biodisponibilidade deste, ao prolongarem o tempo de residência na área pré-corneal (SAILAJA et al., 2010). A elevada capacidade mucoadesiva do quitosano, traduzida pela interação electrostática entre as suas cargas positivas e as cargas negativas da mucina (principal constituinte do muco) ocular, parece ser uma propriedade chave no sucesso destas formulações para administração oftalmológica.

Estudos muito recentes revelam que nanopartículas de quitosano são capazes de entregar o DNA no interior das células humanas com resultados muito encorajadores no controlo e na diminuição do crescimento desregulado de células cancerígenas (GASPAR et al., 2011).

Adicionalmente, estudos *in vitro* e *in vivo* demonstram significativa atividade anti tumoral do próprio quitosano o que abre excelentes perspetivas à aplicação deste polímero natural no tratamento de tumores cancerígenos (WANG et al., 2011).

Na Tabela 1 encontra-se alguns exemplos de aplicações do quitosano e seus derivados, sob a forma de partículas, enquanto sistemas de libertação de fármacos. Apesar do enorme esforço de investigação dedicado à nanotecnologia, o número de sistemas de libertação de fármacos à base de nanopartículas aprovados para uso humano ou na fase de estudos clínicos é ainda bastante reduzido.

Atualmente, um dos poucos produtos aprovados para uso humano à base de nanopartículas poliméricas de albumina complexadas com paclitaxel é o AbraxaneTM, o qual é utilizado no tratamento do carcinoma da mama (HALEY & FRENKEL, 2008).

A principal limitação dos sistemas de libertação sob a forma de partículas reside, sobretudo, nos métodos de incorporação do fármaco os quais proporcionam, em geral, eficiências de incorporação baixas (TA et al., 2008). Por outro lado, em terapias que exijam que as partículas permaneçam maioritariamente concentradas no local de administração, como é o caso da libertação prolongada e localizada, as nanopartículas tendem a entrar rapidamente na corrente sanguínea e a dispersarem-se no organismo elevando, assim, o risco de toxicidade. Acresce ainda o facto de que as de diâmetro inferior a 10 nm serem facilmente eliminadas pelos rins (CHOI et al., 2011). Além disso, para valores de pH fisiológico, as nanopartículas apresentam baixa estabilidade associada a fenómenos de agregação.

Estes problemas têm orientado a comunidade científica para o desenvolvimento de formulações injetáveis, capazes de gelificar *in situ*, em especial, os sistemas de base quitosano (RUEL-GARIÉPY & LEROUX, 2004; MOURA et al., 2007; MADAN et al., 2009; MOURA et al., 2011).

Libertação de fármacos a partir de sistemas injetáveis

Os sistemas injetáveis formados *in situ* caracterizam-se por se apresentarem na forma de soluções aquosas líquidas antes da administração, tornando-se géis em condições fisiológicas (YU & DING, 2008). A gelificação ocorre *in situ* através de modificação iónica e/ou através de estímulos externos, como por exemplo, uma variação de força iónica, uma alteração no pH ou na temperatura.

A incorporação de moléculas bioativas ou células nestes sistemas é feita após a dissolução do polímero, que ocorre normalmente em água, por simples mistura na solução aquosa líquida, à temperatura ambiente.

A Figura 6 representa esquematicamente um biomaterial injetável (de base quitosano) formado *in situ*.

A principal vantagem decorrente dos sistemas formados *in situ* relativamente aos sistemas de partículas reside no facto dos primeiros poderem ser administrados, por via injetável, diretamente no local de ação terapêutica. A maioria destes sistemas tem sido muito investigada como SLC de fármacos citotóxicos no tratamento de tumores cancerígenos (BERRADA et al., 2005; JAUHARI & DASH, 2006; TA et al., 2008, HAN et al., 2008; MADAN et al., 2009).

Apesar do quitosano ser um biopolímero com elevada aplicação no desenvolvimento de SLC, poucas são ainda as formulações constituídas por este polissacarídeo que possuem propriedades de se formar *in situ*.

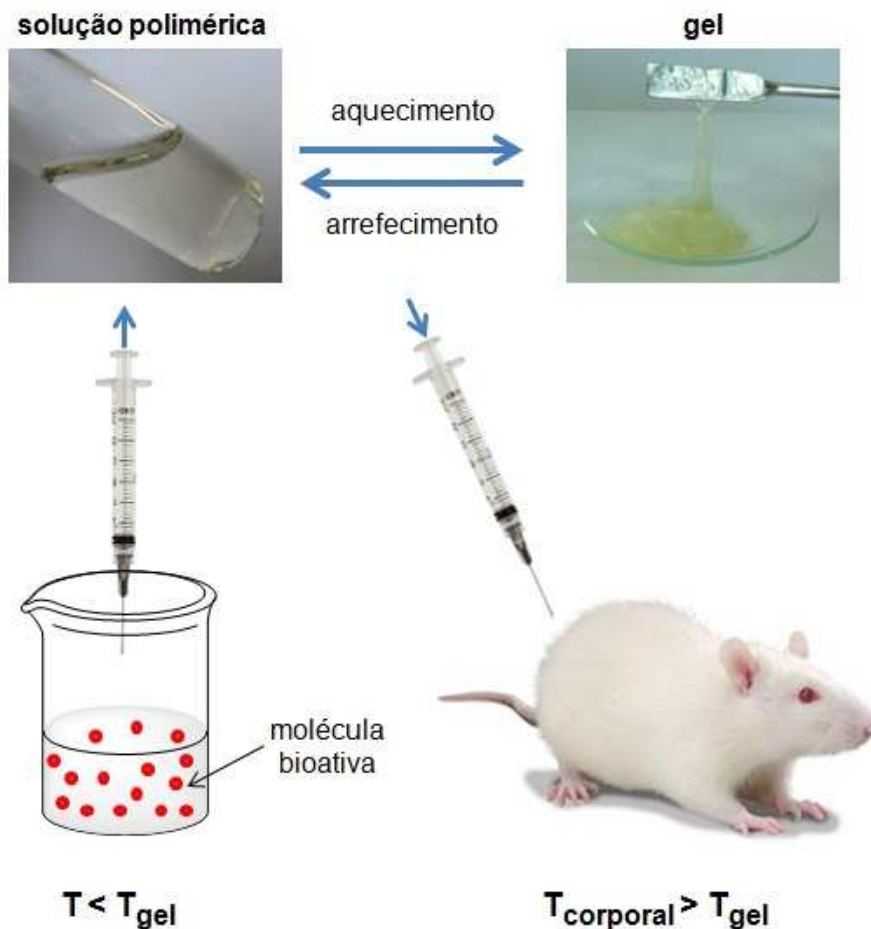


FIGURA 6 - Representação esquemática de um biomaterial injetável, de base quitosano, formado a partir de uma alteração de temperatura. T_{gel} corresponde à temperatura para a qual ocorre a transição entre solução e gel. A solução contendo moléculas bioativas pode ser injetada *in vivo* e tornar-se um gel à temperatura do corpo, $T_{corporal}$. (adaptado de YU & DING, 2008).

No entanto, uma das formulações com maior sucesso na área dos SLC formados *in situ* é a combinação do quitosano com um sal, o β -fosfato dissódico de glicerol (β -GP). Esta formulação, quitosano/ β -GP, desenvolvida pela primeira vez por Chenite e seus colaboradores (CHENITE et al., 2000), possui um pH neutro, permanece líquida à temperatura ambiente e forma um gel à temperatura do corpo humano. Além disso, possui um carácter termo-reversível, ou seja, o gel pode repetir a transição solução-gel e gel-solução sem qualquer limite no tempo de vida do gel. Este sistema tem sido particularmente estudado como transportador de vários agentes citostáticos, tais como a doxorrubicina, a camptotecina e o paclitaxel (RUEL-GARIÉPY et al., 2004; BERRADA et al., 2005; HAN et al., 2008).

Como é sabido, a eficácia destes fármacos em terapia do cancro é limitada devido à sua elevada toxicidade. No entanto, a utilização de um SLC formado *in situ*, administrado via intratumoral ou via subcutânea junto ao tumor, proporciona uma libertação controlada e progressiva daqueles citostáticos ao longo do tempo, minimizando a exposição de outros órgãos. A Figura 7 ilustra esquematicamente o procedimento descrito.

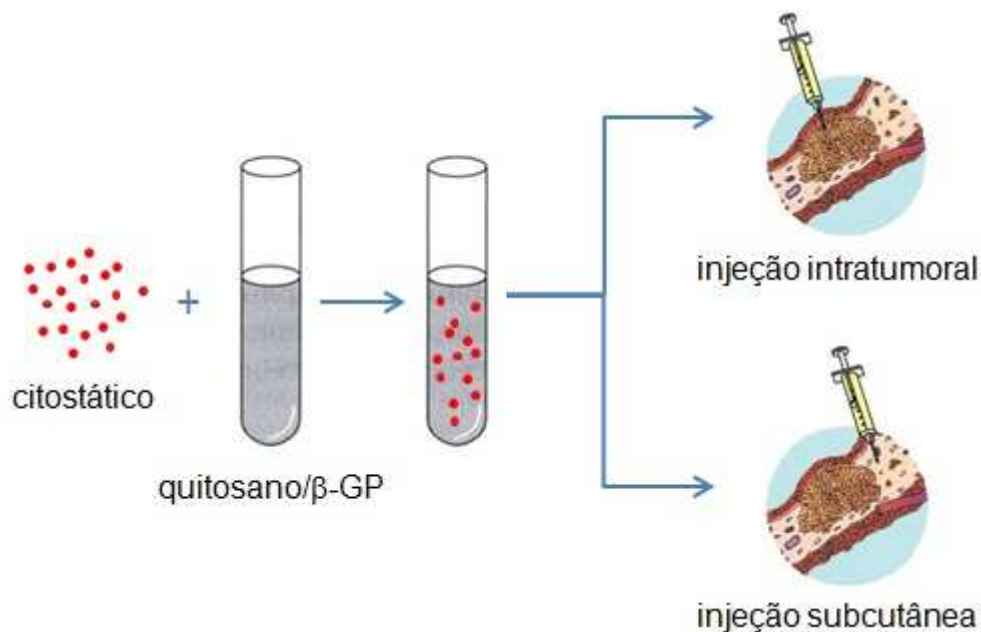


FIGURA 7 – Representação esquemática da preparação de um SLC quitosano/ β -GP/citostático, formado *in situ*, para administração por injeção intratumoral ou injeção subcutânea, junto ao tumor; β -GP - β -fosfato dissódico de glicerol (adaptado de TA et al., 2008).

De realçar que o efeito dos citostáticos libertados em órgãos ou tecidos, como o coração e a pele, assim como o desempenho de sistemas desta natureza no tratamento de câncros metastáticos ainda não foram investigados.

Além disso, apesar de muitos dos sistemas injetáveis de quitosano apresentarem elevado potencial para aplicação em diferentes tipos de cancro, ainda não foram testados *in vivo* ou em ensaios pré-clínicos. Na verdade, de entre os sistemas de libertação controlada capazes de gelificar *in situ*, encontra-se em fase de desenvolvimento clínico uma formulação comercial, denominada OncoGel™, constituída por dois polímeros sintéticos, o poli(ácido láctico-co-glicólico) e o poli(etileno glicol) para libertação de paclitaxel no tratamento do cancro do esófago (DUVALL et al., 2009). Esta formulação, da família dos polímeros termo-reversíveis, pode ser diretamente injetada no tumor e libertar continuamente o fármaco por um período de 4 a 6 semanas, após o qual o gel é reabsorvido.

De realçar que o uso de formulações poliméricas formadas *in situ* não é apenas reduzido à libertação de citostáticos. Estudos mais recentes apontam para a possibilidade de usar SLC de base quitosano formados *in situ* para libertação sustentada de agentes biológicos anti-tumorais tais como plasmídeos, pequenos oligonucleotídeos, hormonas, anticorpos e agentes peptídicos (GASPAR et al., 2011). O desafio reside no desenvolvimento de estratégias de libertação combinadas, que incluam dois tipos diferentes de agentes anti-tumorais no mesmo sistema polimérico, com vista a melhorar a eficiência do tratamento dos diferentes tipos de cancro.

Na Tabela 1 apresenta-se um resumo dos trabalhos publicados na literatura nos anos mais recentes sobre SLC de base quitosano, onde se inclui, naturalmente, os sistemas injetáveis formados *in situ*.

TABELA 1 – Resumo de alguns trabalhos, publicados na literatura científica, relativos a SLC de fármacos de base quitosano.

Tipo de estrutura do SLC	Sistema polimérico	Método de preparação	Agente bioativo libertado	Referência Bibliográfica
Filme	quitosano/PAA,PHPMA,PVA, gelatina	combinação com outros polímeros	oxitetraciclina	Sokker et al. (2009)
	quitosano/polietilenoglicol	modificação física com TPP	ciprofloxacina	Wang et al. (2007)
	quitosano	evaporação do solvente	propranolol ácido salicílico amicacina e daptomicina paclitaxel maleato de timolol	Rasool et al. (2011) Michalak et al. (2012) Noel et al. (2008) Dhanikula et al. (2004) Fulgêncio et al. (2012)
	quitosano/genipin/PVP	modificação química com genipin e física com PVP	propranolol	Aldana et al. (2012)
	quitosano/gelatina	modificação química com glutaraldeído	levamisol, cimetidina, e cloranfenicol	Yao et al. (1995)
Sistema de partículas (micropartículas)	quitosano/alginato	modificação física reforçada com modificação química com genipin	indometacina	Mi et al. (2002)
	quitosano/sulfato de condroitina	modificação química com glutaraldeído	5-fluorouracil	Huang et al. (2010)
	<i>N,O</i> -carboximetilquitosano/alginato	modificação física com iões Ca ²⁺ modificação química com genipin modificação química com glutaraldeído	BSA BSA BSA	Lin et al. (2005) Chen et al. (2004) Mi et al. (2005)

TABELA 1 – Resumo de alguns trabalhos, publicados na literatura científica, relativos a SLC de fármacos de base quitosano. (cont.)

Tipo de estrutura do SLC	Sistema polimérico	Método de preparação	Agente bioativo libertado	Referência Bibliográfica
Sistema de partículas (micropartículas)	quitosano/ <i>N,N</i> -dimetilacrilamida	modificação química com glutaraldeído	clorotiazida	Babu et al. (2008)
	quitosano	modificação química com genipin	claritromicina, tramadol e heparina BSA	Harris et al. (2010) Karnchanajindanun et al. (2011)
	quitosano	modificação química com glutaraldeído	insulina	Jain et al. (2007)
	quitosano/TPP, PP	modificação física	6-mercaptopurina	Mi et al. (1999)
	quitosano/ácido fítico, TPP	modificação física	insulina	Lee et al. (2011)
Sistemas de partículas (nanopartículas)	quitosano/TPP	modificação física	leucovorin e 5-fluorouracil insulina BSA ciclosporina A	Li et al. (2011) Azevedo et al. (2011) Makhlof et al. (2011) Gan et al. (2007)
	quitosano	modificação química com glutaraldeído	conjugado dextrano-doxorrubicina	Mitra et al. (2001)
	quitosano/alginate	modificação física	nifedipina	Li et al. (2008)
	quitosano/alginate/Pluronic	modificação física	curcumina	Das et al. (2010)
	quitosano/ciclodextrina	modificação física	glutathione	Ieva et al. (2009)
	quitosano	precipitação	gemcitabina	Arias et al. (2011)
	quitosano/DNA	modificação física com TPP	DNA	Gaspar et al. (2011); Iqbal et al. (2003)

TABELA 1 – Resumo de alguns trabalhos, publicados na literatura científica, relativos a SLC de fármacos de base quitosano. (cont.)

Tipo de estrutura do SLC	Sistema polimérico	Método de preparação	Agente bioativo libertado	Referência Bibliográfica
Matriz injetável	azida/quitosano/lactose	irradiação UV	paclitaxel	Obara et al. (2005)
	quitosano/polietilenoglicol	modificação física reforçada com modificação química com genipin	BSA	Bhattarai et al. (2005)
	quitosano/ β -GP	modificação física	paclitaxel camptotecina doxorubicina insulina	Ruel-Gariépy et al. (2004) Berrada et al. (2005) Han et al. (2008) Kempe et al., (2008)
	quitosano quaternizado/ α -GP, β -GP	modificação física	cloridrato de doxorubicina	Wu et al. (2006)
	quitosano/ PNIPAAm	modificação física	cisplatina e carboplatina	Fang et al. (2008)
	quitosano/amido/ β -GP	modificação física	condrócitos	Ngoenkam et al. (2010)
	quitosano/Pluronic	modificação física	condrócitos	Park et al. (2009)
	quitosano/monooleato de glicerol	modificação física	paclitaxel	Jauhari et al. (2006)

PAA - poli(ácido acrílico); PHPMA - poli(hidroxi-propil-metacrilato); PVA - poli(vinil álcool); TPP - tripolifosfato de sódio; PP - polifosfato; PVP - poli(*N*-vinil-2-pirrolidona); BSA - albumina de soro bovino; DNA - ácido desoxirribonucleico; GP - fosfato dissódico de glicerol; PNIPAAm - poli(*N*-isopropilacrilamida)

CONSIDERAÇÕES FINAIS

Os inúmeros trabalhos publicados demonstram inequivocamente a importância do quitosano e dos seus derivados no desenvolvimento de SLC de fármacos.

O sucesso do quitosano na preparação de SLC prende-se com o facto de este polissacarídeo possuir um conjunto de características químicas e biológicas singulares, entre elas biocompatibilidade, biodegradabilidade e não toxicidade.

Na área da Tecnologia Farmacêutica, estes sistemas têm um interesse acrescido uma vez que a reformulação de fármacos em SLC pode representar uma abordagem mais racional e menos dispendiosa do que a procura de novas moléculas e a possibilidade de re-patenteamento.

Os SLC apresentam vantagens relativamente às formas de administração convencionais, designadamente permitem controlar a velocidade de libertação do fármaco e/ou direcioná-lo para um alvo específico do organismo, como seja um local de inflamação ou um tumor. Além disso, estes sistemas apresentam um comportamento previsível e reprodutível.

Por último, é de referir que o estudo e a aplicação do quitosano e seus derivados no desenvolvimento de SLC está longe de ser considerado esgotado com esta breve revisão de conhecimentos.

REFERÊNCIAS

AGNIHOTRI, S. A.; MALLIKARJUNA, N. N.; AMINABHAVI, T. M. Recent advances on chitosan-based micro- and nanoparticles in drug delivery. **Journal of Controlled Release**, v.100, p.5-28, 2004.

ALDANA, A. A.; GONZÁLEZ, A.; STRUMIA, M. C.; MARTINELLI, M. Preparation and characterization of chitosan/genipin/poly(N-vinyl-2-pyrrolidone) films for controlled release drugs. **Materials Chemistry and Physics**, v.134, p.317-324, 2012.

ARANAZ, I.; MENGÍBAR, M.; HARRIS, R.; PAÑOS, I.; MIRALLES, B.; ACOSTA, N.; GALED, G.; HERAS, A. Functional Characterization of Chitin and Chitosan. **Current Chemical Biology**, v.3, p.203-230, 2009.

ARIAS, J. L.; REDDY, L. H.; COUVREUR, P. Superior preclinical efficacy of gemcitabine developed as chitosan nanoparticulate system. **Biomacromolecules**, v.12, p.97-104, 2011.

AZEVEDO, J. R.; SIZILIO, R. H.; BRITO, M. B.; COSTA, A. M. B.; SERAFINI, M. R.; ARAÚJO, A. A. S.; SANTOS, M. R. V.; LIRA, A. A. M.; NUNES, R. S. Physical and chemical characterization insulin-loaded chitosan-TPP nanoparticles. **Journal of Thermal Analysis and Calorimetry**, v.106, p.685-689, 2011.

BABU, V. R.; HOSAMANI, K. M.; AMINABHAVI, T. M. Preparation and in-vitro release of chlorothiazide novel pH-sensitive chitosan-*N,N*-dimethylacrylamide semi-interpenetrating network microspheres. **Carbohydrate Polymers**, v.71, p.208-217, 2008.

BERRADA, M.; SERREQUI, A.; DABBARH, F.; OWUSU, A.; GUPTA, A.; LEHNERT, S. A novel non-toxic camptothecin formulation for cancer chemotherapy. **Biomaterials**, v.26, p.2115-20, 2005.

BHATTARAI, N.; RAMAY, H. R.; GUNN, J.; MATSEN, F. A.; ZHANG, M. PEG-grafted chitosan as an injectable thermosensitive hydrogel for sustained protein release. **Journal of Controlled Release**, v.103, p.609-624, 2005.

CALDORERA-MOORE, M.; PEPPAS, N. A. Micro- and nanotechnologies for intelligent and responsive biomaterial-based medical systems. **Advanced Drug Delivery Reviews**, v.61, p.1391-1401, 2009.

CHEN, S.-C.; WU, Y.-C.; MI, F.-L.; LIN, Y.-H.; YU, L.-C.; SUNG, H.-W. A novel pH-sensitive hydrogel composed of *N,O*-carboxymethyl chitosan and alginate cross-linked by genipin for protein drug delivery. **Journal of Controlled Release**, v.96, p.285-300, 2004.

CHENITE, A.; CHAPUT, C.; WANG, D.; COMBES, C.; BUSCHMANN, M. D.; HOEMANN, C. D.; LEROUX, J. C.; ATKINSON, B. L.; BINETTE, F.; SELMANI, A. Novel injectable neutral solutions of chitosan form biodegradable gels in situ. **Biomaterials**, v.21, p.2155-61, 2000.

CHOI, C. H. J.; ZUCKERMAN, J. E.; WEBSTER, P.; DAVIS, M. E. Targeting kidney mesangium by nanoparticles of defined size. **Proceedings of the National Academy of Sciences**, v.108, p.6656-61, 2011.

DAS, R. K.; KASOJU, N.; BORA, U. Encapsulation of curcumin in alginate-chitosan-pluronic composite nanoparticles for delivery to cancer cells. **Nanomedicine: Nanotechnology, Biology and Medicine**, v.6, p.153-160, 2010.

DASH, A. K.; CUDWORTH, G. C. Therapeutic applications of implantable drug delivery systems. **Journal of Pharmacological and Toxicological Methods**, v.40, p.1-12, 1998.

DASH, M.; CHIellini, F.; OTTENBRITE, R. M.; CHIellini, E. Chitosan – A versatile semi-synthetic polymer in biomedical applications. **Progress in Polymer Science**, v.36, p.981-1014, 2011.

DES RIEUX, A.; FIEVEZ, V.; GARINOT, M.; SCHNEIDER, Y.-J.; PRÉAT, V., Nanoparticles as potential oral delivery systems of proteins and vaccines: A mechanistic approach. **Journal of Controlled Release**, v.116, p.1-27, 2006.

DHANIKULA, A. B.; PANCHAGNULA, R. Development and characterization of biodegradable chitosan films for local delivery of paclitaxel. **The AAPS Journal**, v.6, p.1-12, 2004.

DUVALL, G. A.; TARABAR, D.; SEIDEL, R. H.; ELSTAD, N. L.; FOWERS, K. D. Phase 2: a dose-escalation study of OncoGel (ReGel/paclitaxel), a controlled-release formulation of paclitaxel, as adjunctive local therapy to external-beam radiation in patients with inoperable esophageal cancer. **Anti-Cancer Drugs**, v.20, p.89-95, 2009.

FAIKRUA, A.; JEENAPONGSA, R.; SILA_ASNA, M.; VIYOCH, J. Properties of β -glycerol phosphate/collagen/chitosan blend scaffolds for application in skin tissue engineering. **ScienceAsia**, v.35, p.247-254, 2009.

FANG, J.-Y.; CHEN, J.-P.; LEU, Y.-L.; Hu, J.-W. The delivery of platinum drugs form thermosensitive hydrogels containing different ratios of chitosan. **Drug Delivery**, v.15, p.235-243, 2008.

FERREIRA, P.; COELHO, J. F. J.; SANTOS, K. S. C. R. DOS; FERREIRA, E. I.; GIL, M. H. Thermal characterization of chitosan-grafted membranes to be used as wound dressings. **Journal of Carbohydrate Chemistry**, v.25; p.233-251, 2006.

FULGÊNCIO, G. D.; VIANA, F. A.; RIBEIRO, R. R.; YOSHIDA, M. I.; FARACO, A. G.; CUNHA-JÚNIOR, A. D. New mucoadhesive chitosan film for ophthalmic drug delivery of timolol maleate: in vivo evaluation. **Journal of Ocular Pharmacology and Therapeutics**, 2012, In press, (doi:10.1089/jop.2011.0174).

GAN, Q.; WANG, T. Chitosan nanoparticle as protein delivery carrier – Systematic examination of fabrication conditions for efficient loading and release. **Colloids and Surfaces B: Biointerfaces**, v.59, p.24-34, 2007.

GASPAR, V. M.; CORREIA, I. J.; SOUSA, A.; SILVA, F.; PAQUETE, C. M.; QUEIROZ, J. A.; SOUSA, F. Nanoparticle mediated delivery of pure P53 supercoiled plasmid DNA for gene therapy. **Journal of Controlled Release**, v.156, p.212-222, 2011.

HAFETI, A.; AMSDEN, B. Biodegradable injectable in situ forming drug delivery systems. **Journal of Controlled Release**, v.80, p.9-28, 2002.

HALEY, B.; FRENKEL, E. Nanoparticles for drug delivery in cancer treatment. **Urologic Oncology-Seminars and Original Investigations**, v.26, p.57-64, 2008.

HAN, H. D.; SONG, C. K.; PARK, Y. S.; NOH, K. H.; KIM, J. H.; HWANG, T.; KIM, T. W.; SHIN, B. C. A chitosan hydrogel-based cancer drug delivery system exhibits synergistic antitumor effects by combining with a vaccinia viral vaccine. **International Journal of Pharmaceutics**, v.350, p.27-34, 2008.

HAN, H. D.; SONG, C. K.; PARK, Y. S.; NOH, K. H.; KIM, J. H.; HWANG, T.; KIM, T. W.; SHIN, B. C. A chitosan hydrogel-based cancer drug delivery system exhibits synergistic antitumor effects by combining with a vaccinia viral vaccine. **International Journal of Pharmaceutics**, v.350, p.27-34, 2008.

HARRIS, R.; LECUMBERRI, E.; HERAS, A. Chitosan-Genipin Microspheres for the Controlled Release of Drugs: Clarithromycin, Tramadol and Heparin. **Marine Drugs**, v.8, p.1750-62, 2010.

HUANG, L.; SUI, W.; WANG, Y.; JIAO, Q. Preparation of chitosan/chondroitin sulfate complex microcapsules and application in controlled release of 5-fluorouracil. **Carbohydrate Polymers**, v.80, p.168-173, 2010.

HWANG, K. T.; KIM, J. T.; JUNG, S. T.; CHO, G. S.; PARK, H. J. Properties of chitosan-based biopolymer films with various degrees of deacetylation and molecular weights. **Journal of Applied Polymer Science**, v.89, p.3476-84, 2003.

IEVA, E.; TRAPANI, A.; CIOFFI, N.; DITARANTO, N.; MONOPOLI, A.; SABBATINI, L. Analytical characterization of chitosan nanoparticles for peptide drug delivery applications. **Analytical and Bioanalytical Chemistry**, v.393, p.207-15, 2009.

IQBAL, M.; LIN, W.; JABBAL-GILL, I.; DAVIS, S. S.; STEWARD, M. W.; ILLUM, L. Nasal delivery of chitosan-DNA plasmid expressing epitopes of respiratory syncytial virus (RSV) induces protective CTL responses in BALB/c mice. **Vaccine**, v.21, p.1478-1485, 2003.

JAIN, S. K.; JAIN, N. K.; GUPTA, Y.; JAIN, A.; JAIN, D.; CHAURASIA, M. Mucoadhesive chitosan microspheres for non-invasive and improved nasal delivery of insulin. **Indian Journal of Pharmaceutical Sciences**, v.69, p.498-504, 2007.

JAUHARI, S.; DASH, A. K. A mucoadhesive in situ gel delivery system for Paclitaxel. **AAPS PharmSciTech**, v.7, p.1-6, 2006.

KARNCHANAJINDANUN, J.; SRISA-ARD, M.; BAIMARK, Y. Genipin-cross-linked chitosan microspheres prepared by a water-in-oil emulsion solvent diffusion method for protein delivery. **Carbohydrate Polymers**, v.85, p.674-680, 2011.

KEMPE, S.; METZ, H.; BASTROP, M.; HVILSOM, A.; CONTRI, R. V.; MADER, K. Characterization of thermosensitive chitosan-based hydrogels by rheology and electron paramagnetic resonance spectroscopy. **European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics**, v.68, p.26-33, 2008.

KHORA, E.; LIM, L. Y. Implantable applications of chitin and chitosan. **Biomaterials**, v.24, p.2339-49, 2003.

KIM, I.-Y.; SEO, S.-J.; MOON, H.-S.; YOO, M.-K.; PARK, I.-Y.; KIM, B.-C.; CHO, C.-S. Chitosan and its derivatives for tissue engineering applications. **Biotechnology Advances**, v.26, p.1-21, 2008.

KUMAR, M. N. V. R. A review of chitin and chitosan applications. **Reactive & Functional Polymers**, v.46, p.1-27, 2000.

KUMAR, M. N. V. R.; MUZZARELLI, R. A. A.; MUZZARELLI, C.; SASHIWA, H.; DOMB, A. J. Chitosan chemistry and pharmaceutical perspectives. **Chemical Reviews**, v.104, p.6017-84, 2004.

LEE, H.; JEONG, C.; GHAFOR, K.; CHO, S.; PARK, J. Oral delivery of insulin using chitosan capsules cross-linking with phytic acid. **Bio-Medical Materials and Engineering**, v.21, p.25-36, 2011.

LI, P.; DAI, Y.-N.; ZHANG, J.-P.; WANG, A.-Q.; WEI, Q. Chitosan–Alginate Nanoparticles as a Novel Drug Delivery System for Nifedipine. **International Journal of Biomedical Science**, v.4, p.221-228, 2008.

LI, P.; WANG, Y.; PENG, Z.; SHE, F.; KONG, L. Development of chitosan nanoparticles as drug delivery systems for 5-fluorouracil and leucovorin blends. **Carbohydrate Polymers**, v.85, p.698-704, 2011.

LIN, Y.-H.; LIANG, H.-F.; CHUNG, C.-K.; CHEN, M.-C.; SUNG, H.-W. Physically crosslinked alginate/*N,O*-carboxymethyl chitosan hydrogels with calcium for oral delivery of protein drugs. **Biomaterials**, v.26, p.2105-13, 2005.

LIU, T.-Y.; LIN, Y.-L. Novel pH-sensitive chitosan-based hydrogel for encapsulating poorly water-soluble drugs. **Acta Biomaterialia**, v.6, p.1423-29, 2010.

MADAN, M.; BAJAJ, A.; LEWIS, S.; UDUPA, N.; BAIG, J. A. In situ forming polymeric drug delivery systems. **Indian Journal of Pharmaceutical Sciences**, v.71 p. 242-251, 2009.

MAKHLOF, A.; TOZUKA, Y.; TAKEUCHI, H. Design and evaluation of novel pH-sensitive chitosan nanoparticles for oral insulin delivery. **European Journal of Pharmaceutics Sciences**, v.42, p.445-451, 2011.

MENGATTO, L. N.; HELBLING, I. M.; LUNA, J. A. Recent advances in chitosan films for controlled release of drugs. **Recent Patents on Drug Delivery & Formulation**, 2012, In press.

MI, F.-L.; LIANG, H.-F.; WU, Y.-C.; LIN, Y.-S.; YANG, T.-F.; SUNG, H.-W. pH-sensitive behavior of two-component hydrogels composed of *N,O*-carboxymethyl chitosan and alginate. **Journal of Biomaterials Science - Polymer Edition**, v.16, p.1333-1345, 2005.

MI, F.-L.; SUNG, H.-W.; SHYU, S.-S. Drug release from chitosan-alginate complex beads reinforced by a naturally occurring cross-linking agent. **Carbohydrate Polymers**, v.48, p.61-72, 2002.

MI, F.-L.; SHYU, S.-S.; WONG, T.-B.; JANG, S.-F.; LEE, S.-T.; LU, K.-T. Chitosan-Polyelectrolyte Complexation for the Preparation of Gel Beads and Controlled Release of Anticancer Drug. II. Effect of pH-Dependent Ionic Crosslinking or Interpolymer Complex Using Tripolyphosphate or Polyphosphate as Reagent. **Journal of Applied Polymer Science**, v.74, p.1093-1107, 1999.

MICHALAK, I.; MUCHA, M. The release of active substances from selected carbohydrate biopolymer membranes. **Carbohydrate Polymers**, v.87, p.2432-38, 2012.

MITRA, S.; GAUR, U.; GHOSH, P. C.; MAITRA, A. N. Tumor targeted delivery of encapsulated dextran-doxorubicin conjugate using chitosan nanoparticles as carrier. **Journal of Controlled Release**, v.74, p.317-323, 2001.

MOURA, M. J.; FANECA, H.; LIMA, M. P.; GIL, M. H.; FIGUEIREDO, M. M. In situ forming chitosan hydrogels prepared via ionic/covalent co-crosslinking. **Biomacromolecules**, v.12, p.3275-84, 2011.

MOURA, M. J.; FIGUEIREDO, M. M.; GIL, M. H. Rheological Study of Genipin Cross-Linked Chitosan Hydrogels. **Biomacromolecules**, v.8, p.3823-29, 2007.

MUFAMADI, M. S.; PILLAY, V.; CHOONARA, Y. E.; DU TOIT, L. C.; MODI, G.; NAIDOO, D.; NDESENDO, V. M. K. A review on composite liposomal technologies for specialized drug delivery. **Journal of Drug Delivery**, v.2011, p.1-19, 2011.

NAIR, L. S.; LAURENCIN, C. T. Polymers as Biomaterials for Tissue Engineering and Controlled Drug Delivery. **Advances in Biochemical Engineering / Biotechnology**, v.102, p.47-90, 2006.

NGOENKAM, J.; FAIKRUA, A.; YASOTHORNSRIKUL, S.; VIYOCH, J. Potential of an injectable chitosan/starch/ β -glycerol phosphate hydrogel for sustaining normal

chondrocyte function. **International Journal of Pharmaceutics**, v.391, p.115-124, 2010.

NOEL, S. P.; COURTNEY, H.; BUMGARDNER, J. D.; HAGGARD, W. O. Chitosan films: A potential local drug delivery system for antibiotics. **Clinical Orthopaedics and Related Research**, v.466, p.1377-82, 2008.

OBARA, K.; ISHIHARA, M.; OZEKI, Y.; ISHIZUKA, T.; HAYASHI, T.; NAKAMURA, S.; SAITO, Y.; YURA, H.; MATSUIB, T.; HATTORIB, H.; TAKASE, B.; ISHIHARA, M.; KIKUCHI, M.; MAEHARA, T. Controlled release of paclitaxel from photocrosslinked chitosan hydrogels and its subsequent effect on subcutaneous tumor growth in mice. **Journal of Controlled Release**, v.110, p.79-89, 2005.

PARK, K. M.; LEE, S. Y.; YOUNG, Y. K.; NA, J. S.; LEE, M. C.; PARK, K. D. Thermosensitive chitosan–Pluronic hydrogel as an injectable cell delivery carrier for cartilage regeneration. **Acta Biomaterialia**, v.5, p.1956-65, 2009.

PEDRO, A. S.; CABRAL-ALBUQUERQUE, E.; FERREIRA, D.; SARMENTO, B. Chitosan: An option for development of essential oil delivery systems for oral cavity care? **Carbohydrate Polymers**, v.76, p.501-508, 2009.

RASOOL, B. K. A.; AZIZ, U. S.; SARHEED, O.; RASOOL, A. A. A. Design and evaluation of a bioadhesive film for transdermal delivery of propranolol hydrochloride. **Acta Pharmaceutica**, v.61, p.271-282, 2011.

RUEL-GARIÉPY, E.; CHENITE, A.; CHAPUT, C.; GUIRGUIS, S.; LEROUX, J.-C. Characterization of thermosensitive chitosan gels for the sustained delivery of drugs. **International Journal of Pharmaceutics**, v.203, p.89-98, 2000.

RUEL-GARIÉPY, E.; LEROUX, J.-C. In situ-forming hydrogels – review of temperature-sensitive systems. **European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics**, v.58, p.409-426, 2004.

RUEL-GARIÉPY, E.; SHIVE, M.; BICHARA, A.; BERRADA, M.; LE GARREC, D.; CHENITE, A.; LEROUX, J.-C. A thermosensitive chitosan-based hydrogel for the local delivery of paclitaxel. **European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics**, v.57, p.53-63, 2004.

SAILAJA, A. K.; AMARESHWAR, P.; CHAKRAVARTY, P. Chitosan nanoparticles as a drug delivery system. **Research Journal of Pharmaceutical, Biological and Chemical Sciences**, v.1, p.474-484, 2010.

SANTOS, K. S. C. R.; COELHO, J. F. J.; FERREIRA, P.; PINTO, I.; LORENZETTI, S. G.; FERREIRA, E. I.; HIGA, O. Z.; GIL, M. H. Synthesis and characterization of membranes obtained by graft copolymerization of 2-hydroxyethyl methacrylate and acrylic acid onto chitosan. **International Journal of Pharmaceutics**, v.310, p.37-45, 2006.

SILVA, H. S. R. C.; SANTOS, K. S. C. R. DOS; FERREIRA, E. I. Quitosana: Derivados hidrossolúveis, aplicações farmacêuticas e avanços. **Química Nova**, v.29, p.776-785, 2006.

SINHA, V.R.; SINGLA, A.K.; WADHAWAN, S.; KAUSHIK, R.; KUMRIA, R.; BANSAL, K.; DHAWAN, S. Chitosan microspheres as a potential carrier for drugs. **International Journal of Pharmaceutics**, v.274, p.1-33, 2004.

SOKKER, H. H.; ABDEL GHAFAR, A. M.; GAD, Y. H.; ALY, A. S. Synthesis and characterization of hydrogels based on grafted chitosan for the controlled drug release. **Carbohydrate Polymers**, v.75, p.222-229, 2009.

SUH, J.-K. F.; MATTHEW, H. W. T. Application of chitosan-based polysaccharide biomaterials in cartilage tissue engineering: a review. **Biomaterials**, v.21, p.2589-98, 2000.

TA, H. T.; DASS, C. R.; DUNSTAN, D. E. Injectable chitosan hydrogels for localized cancer therapy. **Journal of Controlled Release**, v.126, p.205-216, 2008.

WANG, J. J.; ZENG, Z. W.; XIAO, R. Z.; XIE, T.; ZHOU, G. L.; ZHAN, X. R.; WANG, S. L. Recent advances of chitosan nanoparticles as drug carriers. **International Journal of Nanomedicine**, v.6, p.765-774, 2011.

WANG, Q.; DONG, Z.; DU, Y.; KENNEDY, J. F. Controlled release of ciprofloxacin hydrochloride from chitosan/polyethylene glycol blend films. **Carbohydrate Polymers**, v.69, p.336-343, 2007.

WU, J.; SU, Z.-G.; MA, G.-H. A thermo- and pH-sensitive hydrogel composed of quaternized chitosan/glycerophosphate. **International Journal of Pharmaceutics**, v. 315, p.1-11, 2006.

YAO, K. D.; YIN, Y. J.; XU, M. X.; WANG, Y. F. Investigation of pH sensitive drug delivery system of chitosan/gelatin hybrid polymer network. **Polymer International**, v.38, p.77-82, 1995.

YU, L.; DING, J. Injectable hydrogels as unique biomedical materials. **Chemical Society Reviews**, v.37, p.1473-81, 2008.

ZHANG, J.; LAN, C. Q.; POST, M.; SIMARD, B.; DESLANDES Y.; HSIEH, T. H. Design of nanoparticles as drug carriers for cancer therapy. **Cancer Genomics & Proteomics**, v.3, p.147-158, 2006.