

Híbridos de Quitosana/Argila para Encapsulamento e Liberação Controlada do Fármaco Dexametasona

I. M. M. Fernandes¹, E. P. N. Lima¹, B. F. F. Santos¹, J. M. Cartaxo², M. V. L. Fook², S. M. L. Silva^{2,*}

¹ Programa de Pós-Graduação em Ciência e Engenharia de Materiais, Unidade Acadêmica de Engenharia de Materiais, Universidade Federal de Campina Grande, Campina Grande, PB.

² Unidade Acadêmica de Engenharia de Materiais, Universidade Federal de Campina Grande, Av. Aprígio Veloso 882, Bodocongó, 58429-900, Campina Grande, PB

(Recebido em 31/01/2020; revisado em 03/02/2020; aceito em 05/02/2020)
(Todas as informações contidas neste artigo são de responsabilidade dos autores)

Resumo:

Este trabalho teve como objetivo a preparação de um novo sistema de liberação controlada de fármacos baseado na combinação do polímero natural quitosana com argila montmorilonita. O anti-inflamatório dexametasona (DEX) foi escolhido como droga modelo e foi encapsulado nos híbridos quitosana/montmorilonita por meio da técnica de intercalação por solução. As amostras foram caracterizadas por difratometria de raios X (DRX), espectroscopia no ultravioleta visível (UV-Vis) e microscopia eletrônica de varredura (MEV). Os resultados da caracterização em estado sólido confirmaram a presença de fármaco no material híbrido sintetizado, tanto no espaço entre camadas da montmorilonita (como visto por DRX) como na superfície dos filmes (conforme imagens de MEV). O perfil de liberação do DEX *in vitro*, no fluido intestinal simulado (PBS pH = 7,2), foi avaliado por espectroscopia UV-Vis (242 nm). O DEX encapsulado nos filmes dos híbridos foi liberado de forma controlada/sustentada. Assim, fica evidenciado que os filmes dos híbridos quitosana/montmorilonita são sistemas promissores para controlar o processo de liberação do fármaco dexametasona. Além disso, os materiais empregados na preparação dos híbridos são biocompatíveis, biodegradáveis, atóxicos, abundantes (fonte renovável) e de baixo custo.

Palavras-chave: quitosana, montmorilonita, materiais híbridos, liberação de fármaco, dexametasona.

Abstract:

In this work, a new controlled drug release system based on the combination of chitosan natural polymer and montmorillonite clay was prepared. The dexamethasone (DEX) anti-inflammatory was chosen as model drug and was loaded in the chitosan/montmorillonite hybrids by means of intercalation solution technique. The samples were characterized by X-ray diffraction (XRD), visible ultraviolet spectroscopy (UV-Vis) and scanning electron microscopy (SEM). The results of solid state characterization of the samples confirmed the presence of drug in the synthesized hybrid material, both in the space between layers of montmorillonite (as seen by XRD) and on the surface of the films (according to SEM images). The *in vitro* DEX drug release behavior from chitosan films and chitosan/montmorillonite hybrids films, in simulated gastrointestinal fluid (PBS pH = 7.2), was evaluated by UV-Vis spectroscopy (242 nm). The release of DEX loaded in the hybrid films was controlled/sustained. Thus, they are promising systems to control the process of release of the dexamethasone drug. In addition, the materials used in the preparation of the hybrids are biocompatible, biodegradable, non-toxic, abundant (renewable source) and low cost.

Keywords: Chitosan, montmorillonite, hybrid materials, drug release, dexamethasone.

1. Introdução

Ao longo dos anos, polímeros e argilas têm sido alguns dos excipientes mais comuns para sistemas de administração de fármacos [1-3]. Eles são geralmente combinados para formar materiais híbridos com propriedades melhoradas devido ao efeito sinérgico de ambos [4-7]; sendo, portanto, uma área de estudo bastante explorada como demonstrado pela grande quantidade de documentos publicados [7-21].

São vários os benefícios que podem ser alcançados com a associação de polímeros com argilas para uso como sistemas de administração de fármacos, dentre eles pode-se destacar a maior estabilidade e capacidade de encapsulamento do fármaco e a liberação mais lenta do mesmo uma vez que a argila pode atuar como uma barreira para a liberação do fármaco [1, 4, 15, 22-27]. A liberação mais lenta e controlada

*Email: suedina.silva@ufcg.edu.br (S. M. L. Silva)

do fármaco resulta na diminuição da sua frequência de administração, ajudando, assim, a reduzir os efeitos colaterais indesejáveis e a melhorar a adesão do paciente ao tratamento [28-30]. Além disso, os híbridos polímero/argila podem ser moldados de diferentes formas, como filmes/membranas, hidrogéis, cápsulas, comprimidos, micropartículas e *scaffolds*, adequados para várias aplicações e vias de administração [17, 31-34].

Polímeros naturais e sintéticos são usados na preparação de híbridos para uso como sistemas carreadores (matrizes de suporte) de fármacos [35-39]. Entretanto, nas últimas décadas, muitos pesquisadores têm buscado produzir sistemas carreadores de fármacos a partir de polímeros naturais derivados de sistemas biológicos, incluindo proteínas, ácido desoxirribonucléico e polissacarídeos. Essa tendência é impulsionada não apenas pelas excelentes propriedades dos polímeros naturais em termos de biocompatibilidade, biodegradabilidade e similaridade tecidual, mas também pelo crescente interesse em substituir petroquímicos sintéticos por produtos ecológicos e sustentáveis [40].

Os polissacarídeos mais investigados para uso como sistemas carreadores de fármacos têm sido heparina, sulfato de condroitina e quitosana [41, 42]. Dentre eles, a quitosana se destaca para esta aplicação devido a suas características únicas, como biocompatibilidade, biodegradabilidade e atoxicidade [1, 27, 43-48]. Ademais, a quitosana apresenta propriedades cicatrizante, hemostática, antimicrobiana, angiogênica e analgésica [49-51]. Pode ser degradada *in vivo* por várias enzimas, principalmente pela lisozima [52-55] e os produtos da degradação são oligossacarídeos não tóxicos que podem ser excretados ou incorporados em glicossaminoglicanos e glicoproteínas. Outra característica importante é que, devido à sua carga positiva no pH fisiológico, a quitosana é bioadesiva, o que aumenta a retenção no local de aplicação [56, 57]. Todos esses méritos somados ao baixo custo de produção e a abundância de matéria-prima (fonte renovável), fazem da quitosana um polímero adequado para administração de vários fármacos e macromoléculas [41, 58-66].

Dentre as argilas empregadas na preparação de híbridos a base de quitosana, a montmorilonita, silicato em camadas pertencente ao grupo das esmectitas 2:1, tem sido apontada como uma das mais adequadas [67-70]. Este aluminossilicato de ocorrência natural, com camada individual de 1 nm de espessura, é reconhecido pelo FDA (*Food and Drug Administration*) como seguro para alimentos e medicamentos [71]. Além disso, é abundante, de baixo custo, biocompatível, atóxico e estável sob condições ácidas [69, 70, 72, 73].

Vários estudos sobre o desenvolvimento de híbridos quitosana/montmorilonita para uso como sistemas de liberação controlada de fármacos foram reportados na literatura [15, 25, 32, 34, 74-90]. Entretanto, para o melhor dos nossos conhecimentos, não foram encontrados trabalhos abordando o uso destes híbridos para liberação controlada do dexametasona, corticosteroide sintético utilizado no tratamento de muitas condições inflamatórias e autoimunes, como artrite reumatóide e broncoespasmo.

Dexametasona é um dos medicamentos anti-inflamatórios mais potentes, administrado por via oral ou tópica, em doses que variam de 4 mg a 20 mg/dia [67] e está na lista de medicamentos essenciais da Organização Mundial da Saúde; uma lista dos medicamentos mais importantes necessários em um sistema básico de saúde [91]. Entretanto, devido à sua hidrofobicidade e baixa biodisponibilidade, são necessárias altas doses para atingir seu nível terapêutico no plasma sanguíneo [92]. Isto resulta em efeitos colaterais indesejáveis, como osteoporose [93], altas concentrações de açúcar no sangue, hipertensão [94] e sangramento estomacal e intestinal devido à ulceração [95]. Desta forma, um sistema de liberação controlada deste fármaco é imprescindível para que os inconvenientes associados a este medicamento sejam superados. Por esta razão, o objetivo desse estudo foi preparar filmes dos híbridos de quitosana/montmorilonita, para uso como sistema de liberação controlada do fármaco dexametasona visando prolongar o tempo de liberação deste fármaco e reduzir sua toxicidade. Os efeitos do teor da argila montmorilonita na morfologia e cinética de liberação do fármaco foram avaliados.

2. Materiais e Métodos

2.1 Materiais

Quitosana em pó oriunda da casca de camarão, de média massa molar (114 kDa) e grau de desacetilação DD = 92%, conforme determinados previamente [96], foi fornecida pela Polymar (Fortaleza/CE, Brasil). Montmorilonita sódica comercial Cloisite® Na⁺ (MMT), proveniente da Southern Clay Products Inc. (Gonzales/TX, EUA) e fornecida pela BunTech (São Paulo/SP, Brasil). Esta argila apresenta uma capacidade de troca catiônica (CEC) de 92,6 meq/100 g, conforme informações do fornecedor. Ácido acético glacial P.A (99,9%) e hidróxido de sódio, adquiridos da Cidalab (Campina Grande/PB, Brasil). Acetato de sódio fornecido pela Nuclear (São Paulo/SP, Brasil). Dexametasona C₂₂H₂₉FO₅ (DEX), na forma de pó, com grau de pureza de 98%; etanol e solução tampão fosfato (PBS), fornecidos pela Sigma Aldrich (Missouri, EUA). Todas as soluções aquosas foram preparadas usando água destilada e todos os reagentes e solventes foram usados como recebidos.

2.2 Preparação dos Filmes de Quitosana

Filmes de quitosana foram preparados seguindo o método descrito por Darder et al. [97]. Inicialmente 1 g de quitosana foi dissolvida em 100 ml de uma solução aquosa a 1% (v/v) de ácido acético sob agitação magnética (45°C/2h). A solução resultante foi filtrada para remoção do material insolúvel, em seguida vertida em placas de teflon e deixada a temperatura ambiente até completa evaporação do solvente para formação dos filmes. Por fim, os filmes foram neutralizados, por imersão em uma solução de hidróxido de sódio (1M/30 min), para remover os resíduos ácidos e em seguida foram lavados com água destilada até pH neutro e

secos a temperatura ambiente. Os filmes de quitosana foram codificados como FQ.

2.3 Preparação dos Filmes de Quitosana/Montmorilonita

Os filmes dos híbridos de quitosana/montmorilonita foram preparadas seguindo também o método proposto por Darder et al. [97]. Obtida a solução de quitosana, conforme descrito no item anterior, o pH da mesma foi ajustado para 4,9 com adição de uma solução de hidróxido de sódio (1 M) sob agitação. O pH ácido é necessário para promover grupos amina protonados (NH_3^+) na estrutura da quitosana. Paralelamente, foram preparadas dispersões de montmorilonita/água destilada na concentração de 1% em misturador mecânico a $50 \pm 2^\circ\text{C}$ e 500 rpm por 30 min. Em seguida, a solução de quitosana foi adicionada às dispersões da argila, visando obter híbridos de quitosana/montmorilonita com 10% e 20% em massa de argila. As misturas quitosana/montmorilonita foram mantidas sob agitação mecânica a velocidade de 1200 rpm na temperatura de $50^\circ\text{C} \pm 2^\circ\text{C}$ por 4 h. Em seguida, foram vertidas em placas de teflon e secas à temperatura ambiente até a formação dos filmes. Estes foram submersos em solução de hidróxido de sódio a 1 M por 30 minutos para assegurar a neutralização dos resíduos de ácido; depois lavados em água destilada até alcançar o pH neutro e secos à temperatura ambiente. Os filmes híbridos de quitosana/montmorilonita com 10% e 20% em massa de argila foram codificados como FQ10MMT e FQ20MMT, respectivamente.

2.4 Preparação dos Filmes Carreados com Fármaco Dexametasona (DEX)

Os filmes de quitosana e quitosana/montmorilonita carreados com dexametasona (DEX) foram preparados a partir da adição do fármaco (1,25 mg) às soluções de quitosana e às dispersões de quitosana/montmorilonita, obtidas conforme descrito nos itens anteriores. Após a

inserção do fármaco as soluções/dispersões permaneceram sob agitação magnética por 24h, na temperatura ambiente, e em seguida foram vertidas em placas de teflon para evaporação do solvente e formação dos filmes carreados com o DEX. Os filmes carreados com o DEX foram codificados como FQ-DEX e os filmes híbridos com DEX por FQ10MMT-DEX e FQ20MMT-DEX.

2.5 Caracterização das Amostras

2.5.1 Difractometria de Raios X (DRX)

Os padrões de DRX das amostras foram obtidos em aparelho XRD-7000 Shimadzu (Tóquio/Kyoto, Japan), utilizando radiação $K\alpha$ do cobre ($1,5418 \text{ \AA}$), em um intervalo de 2θ entre 2 e 30° para observar a intercalação das cadeias de quitosana entre as camadas de montmorilonita e para analisar a cristalinidade das amostras. Foi empregada tensão de 40 kV, corrente de 30 mA e velocidade de $1^\circ/\text{min}$. A distância interplanar basal (d_{001}) da argila foi determinada por meio da lei de Bragg, conforme Equação 1 [98]:

$$(1)$$

Onde: d_{001} é a reflexão basal do plano (001) do argilomineral na argila em (nm) e θ é o ângulo do pico referente à reflexão basal (001) da montmorilonita (graus).

2.5.2 Espectroscopia na Região do Ultravioleta (UV-Vis)

A quantidade de DEX liberada dos filmes FQ-DEX, FQ10MMT-DEX e FQ20MMT-DEX foi medida usando um espectrofotômetro UV-Vis da Perkim Elmer Lambda 35 (Shimadzu, Modelo 1800, Kyoto, Japão). Inicialmente, os filmes foram cortados em quatro partes, pesados com precisão e armazenadas individualmente em recipientes contendo 200 mL da solução salina tamponada com fosfato - PBS 0,1 M (pH 7,2), como meio de liberação, conforme ilustrado na Figura 1.

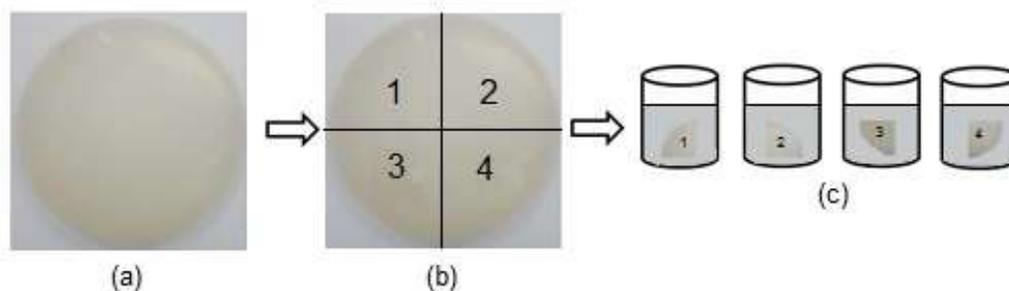


Figura 1 – Imagem do FQ-DEX (a); seções de corte do filme (b) partes cortadas imersas em PBS (c).

Os recipientes contendo os filmes foram mantidos sob agitação a temperatura constante de $37 \pm 2^\circ\text{C}$ e uma velocidade de agitação de 150 rpm em incubadora Shaker IKA - KS4000i (Werke, Alemanha), para simular a temperatura corporal. Posteriormente, uma alíquota do meio de liberação (4 mL) foi retirada em intervalos de tempo

variando de 30 min a 8h e substituída por 4 mL do meio de liberação (PBS à $37^\circ\text{C} \pm 0,5^\circ\text{C}$). As amostras coletadas foram então analisadas quanto ao teor de DEX, medindo a absorbância a 242 nm ($\lambda_{\text{máx}}$ de DEX) em solução tampão fosfato pH 7,2 empregando espectrofotômetro UV-VIS. Todos os experimentos de liberação foram conduzidos em

triplicado e os valores médios foram utilizados para tratamento e plotagem de dados. A concentração do fármaco foi calculada de acordo com uma curva padrão (curva de calibração). Os perfis correspondentes de liberação do fármaco foram representados através de gráficos da porcentagem cumulativa da liberação do fármaco (calculada a partir da quantidade total de DEX contida em cada matriz) versus tempo.

2.5.3 Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV)

A topografia da superfície dos filmes antes e após a liberação do fármaco DEX foi analisada por MEV, em um microscópio Shimadzu modelo SSY-550 (Tóquio/Kyoto, Japão), utilizando 30 kV e pressão da câmara de 0,6 mmHg. Para isto, as superfícies dos filmes foram previamente metalizadas com uma fina camada de ouro, a fim de se tornarem condutoras.

3. Resultados e Discussão

3.1 Difractometria de Raios X (DRX)

Os padrões de difração de raios X do DEX, da MMT, dos filmes FQ, FQ10MMT, FQ20MMT, FQ-DEX, FQCL10-DEX e FQ20MMT-DEX estão apresentados na Figura 2.

O fármaco DEX apresentou picos de difração em $2\theta = 7,95^\circ; 12,43^\circ; 13,57^\circ; 14,41^\circ; 14,93^\circ; 16,07^\circ$ e $17,67^\circ$ (Figura 2). Estes picos apresentam-se próximos aos relatados na literatura [99]. O difratograma da argila MMT, apresentou um pico de reflexão (001) em $2\theta = 6,66^\circ$, correspondendo a uma distância interplanar basal (d_{001}) de 1,32 nm, característico da montmorilonita sódica [100]. No difratograma do (FQ), observa-se uma banda alargada, de baixa intensidade entre $8-13^\circ$, com máximo em 10° e outra banda de maior intensidade em 20° , típico de material semicristalino, corroborando com os difratogramas apresentados previamente na literatura [101-103]. Conforme descrito por Ogawa e colaboradores [104], esses bandas/picos em torno de 10° e 20° estão relacionados aos cristais hidratados e anidros, respectivamente.

Após a incorporação de 10% e 20% da argila MMT aos filmes híbridos FQ10MMT e FQ20MMT, respectivamente, a intensidade dos picos característicos da quitosana (em 10° e 20°) diminuiu significativamente (Figura 2). O pico em $20,0^\circ$, atribuído a cadeias de quitosana alinhadas por interações intermoleculares, tornou-se mais alargado e de menor intensidade, correspondendo ao chamado halo amorfo. Estes resultados indicam que a cristalinidade da quitosana foi reduzida depois de misturada com a MMT, especialmente para os filmes (FQ20MMT). Observa-se também que a quitosana foi intercalada entre as lamelas da MMT, visto que distância interplanar basal (d_{001}) da MMT aumentou de 1,32 nm para 3,54 nm e 2,99 nm quando 10% e 20% de MMT foram misturados aos filmes (FQ10MMT e FQ20MMT), respectivamente. De acordo com os valores das distâncias interplanares fica evidenciado que o teor de MMT influenciou na quantidade de quitosana intercalada entre as camadas da

argila. Uma maior quantidade de quitosana foi posicionada entre as camadas da MMT para o híbrido FQ10MMT.

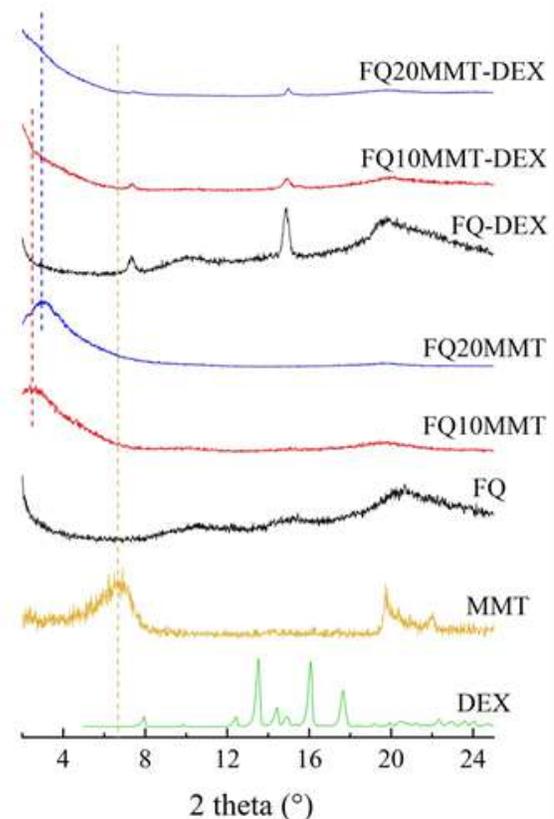


Figura 2 - Difratomogramas de raios X dos materiais puros (DEX, MMT), dos filmes FQ e FQ-DEX e dos filmes híbridos FQ10MMT, FQ20MMT, FQCL10-DEX e FQ20MMT-DEX.

Os difratogramas dos filmes FQ-DEX, FQ10MMT-DEX e FQ20MMT-DEX, Figura 2, mostram picos característicos do DEX nestes filmes, confirmando a presença de partículas cristalinas deste fármaco nos referidos filmes. Mostram também que a incorporação do DEX não afetou a cristalinidade dos filmes; que foram mantidos predominantemente amorfos. Contudo, a morfologia dos filmes carregados com o DEX foi mais desordenada comparada com a dos filmes sem o fármaco, pois os picos da distância interplanar basal (d_{001}) da MMT para os filmes carregados com o DEX são mais alargados e foram deslocados para valores menores de 2θ , o que corresponde a maiores valores de d_{001} , indicando que além da quitosana o fármaco DEX também foi intercalado entre as lamelas da argila.

3.2 Liberação do Fármaco DEX *in vitro*

Os experimentos de liberação *in vitro* do fármaco DEX incorporado nos filmes FQ-DEX e nos filmes híbridos FQ10MMT-DEX e FQ20MMT-DEX foram realizados no fluido intestinal simulado (PBS) em pH 7,2 a 37°C , pois o intestino é o local preferencial de absorção dos medicamentos

administrados por via oral. Os resultados obtidos estão apresentados na Figura 3.

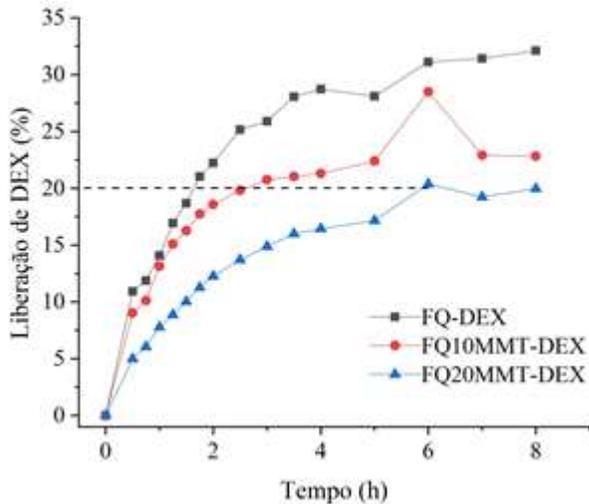


Figura 3 - Perfil de liberação do fármaco DEX carreado no FQ-DEX e nos híbridos FQ10MMT-DEX e FQ20MMT-DEX.

De acordo com os perfis de liberação (Figura 3), todos os filmes apresentaram uma liberação sustentada durante o período estudado (8 h), contudo, a taxa de liberação do fármaco foi afetada pela presença e pelo teor da argila MMT. Os filmes híbridos preparados com a argila MMT (FQ10MMT-DEX e FQ20MMT-DEX) apresentaram uma liberação mais lenta do fármaco, especialmente aqueles com maior teor de MMT (FQ20MMT-DEX). Cerca de 20% do fármaco DEX foram liberados dos filmes de FQ-DEX e dos filmes híbridos FQ10MMT-DEX e FQ20MMT-DEX em 1,6 h; 2,7 h e 5,9 h, respectivamente (Figura 3).

Os filmes FQ10MMT-DEX e FQ20MMT-DEX tiveram o fármaco intercalado no espaço entre camadas da argila e apresentaram uma morfologia intercalada desordenada, conforme sugerido pelos resultados de DRX (Figura 2). Assim, as camadas da argila atuaram como barreira para a difusão do fármaco, que afetaram diretamente a migração do mesmo para o meio de liberação. Sendo assim, a maior quantidade de barreiras (maior quantidade de argila) resultou na liberação mais lenta do fármaco. Além disso, de acordo com os resultados de MEV (Figura 4), apenas uma pequena quantidade do fármaco está revestindo a superfície externa dos filmes FQ10MMT-DEX e FQ20MMT-DEX. Assim, apenas esta quantidade será exposta diretamente ao meio e será dissolvido imediatamente. A maior quantidade do fármaco depositada entre as camadas da argila tem o acesso ao meio de liberação mais difícil, retardando o processo de difusão e a taxa de liberação em comparação com o perfil de liberação dos filmes (FQ-DEX) onde a grande parte do fármaco está revestindo a superfície externa do filme (Figura 4).

3.2 Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV)

As imagens de MEV dos filmes FQ-DEX, FQ10MMT-DEX e FQ20MMT-DEX antes e após 8 h de liberação do fármaco estão mostradas na Figura 4.

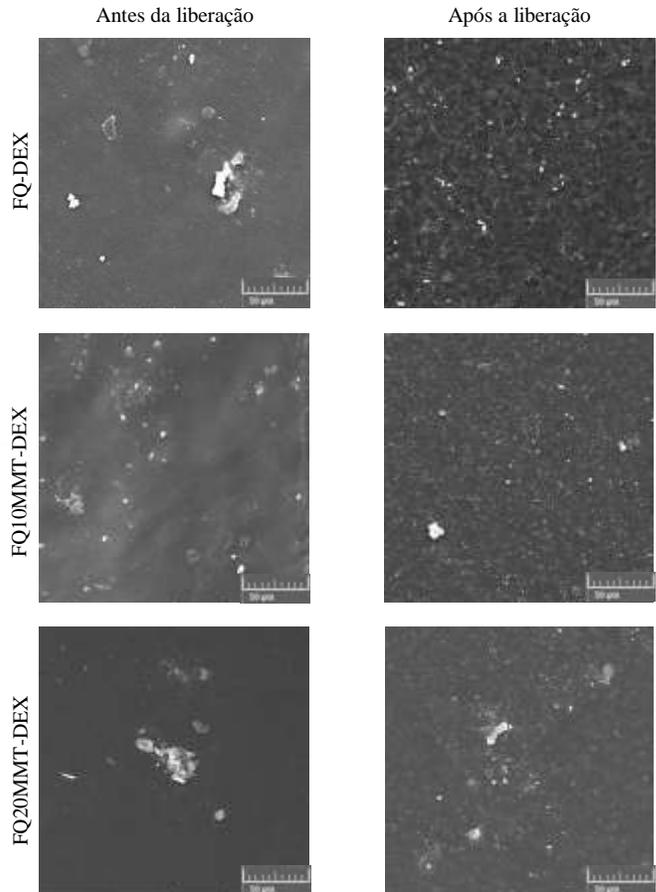


Figura 4- Imagem de MEV da superfície dos filmes carreados com o fármaco DEX (FQ-DEX, FQ10MMT-DEX e FQ20MMT-DEX) antes e após a 8 h de liberação do fármaco.

A partir das imagens de MEV (Figura 4) obtidas antes da liberação do fármaco, observa-se que todos os filmes apresentaram uma superfície lisa, isenta de vazios e com a presença de aglomerados do fármaco. Por outro lado, as imagens de MEV dos filmes após 8 h de liberação do fármaco, apresentaram uma superfície com a presença de vazios no FQ-DEX e com a presença de rugosidade nos híbridos FQ10MMT-DEX e FQ20MMT-DEX, indicando que no caso do FQ-DEX grande parte do fármaco se encontra na superfície externa dos filmes ao passo que nos filmes dos híbridos de quitosana/MMT apenas uma pequena quantidade do fármaco se localizou na superfície e a maior parte se encontra entre as camadas da argila MMT. Após 8 h de liberação, a superfície dos filmes híbridos preparados com o maior teor de argila (FQ20MMT-DEX) se apresentou com um mínimo de rugosidade, indicando que neste caso a grande maioria do fármaco deve ter sido localizada entre as camadas

da argila, corroborando com os dados de liberação (Figura 3) onde foi observada a liberação mais lenta do fármaco para esta amostra. Resultados semelhantes foram obtidos por Bastos [106].

Conclusão

Neste estudo, o anti-inflamatório dexametasona (DEX) foi incorporado com sucesso nos filmes dos híbridos quitosana/montmorilonita. Os resultados da caracterização em estado sólido confirmam a presença do fármaco no material híbrido sintetizado, tanto no espaço entre camadas da argila como na superfície. Foi obtida uma liberação prolongada do fármaco em (PBS pH = 7,2); um total de 32%, 23% e 20% de fármaco acumulado foram liberados em 8 h dos filmes FQ-DEX, FQ10MMT-DEX e FQ20MMT-DEX, respectivamente. O perfil de liberação retardada do DEX foi atribuído à morfologia dos híbridos resultantes e à quantidade de barreiras. Com base nos resultados obtidos, fica evidenciado que os filmes dos híbridos quitosana/montmorilonita podem ser empregados como sistema de liberação sustentada do fármaco dexametasona. Baixo custo, fácil preparação e propriedades de liberação sustentada são algumas vantagens destas formulações, que podem atuar como modelo para futuros estudos sobre hidrogéis para administração tópica.

Agradecimentos

Os autores agradecem à CAPES e ao CNPq pelo suporte financeiro. Ao CERTBIO/UFCG pela realização das análises de microscopia eletrônica de varredura (MEV), Microscopia Ótica (MO) e Difractometria de Raios X (DRX).

Referências

- [1] Viseras, C., Cerezo, P., Sanchez, R., Salcedo, I., Aguzzi, C. Current challenges in clay minerals for drug delivery. *Applied Clay Science*, 48, 291-5, 2010.
- [2] Friess, W. Collagen–biomaterial for drug delivery. *European journal of pharmaceuticals and biopharmaceuticals*, 45, 113-36, 1998.
- [3] Sinha, V., Singla, A. K., Wadhawan, S., Kaushik, R., Kumria, R., Bansal, K., Dhawan, S. Chitosan microspheres as a potential carrier for drugs. *International journal of pharmaceuticals*, 274, 1-33, 2004.
- [4] Viseras, C., Aguzzi, C., Cerezo, P., Bedmar, M. Biopolymer–clay nanocomposites for controlled drug delivery. *Materials Science and Technology*, 24, 1020-6, 2008.
- [5] Nguyen, Q. T., Baird, D. G. Preparation of polymer–clay nanocomposites and their properties. *Advances in Polymer Technology: Journal of the Polymer Processing Institute*, 25, 270-85, 2006.
- [6] Makaremi, M., Pasbakhsh, P., Cavallaro, G., Lazzara, G., Aw, Y. K., Lee, S. M., Milioto, S. Effect of morphology and size of halloysite nanotubes on functional pectin bionanocomposites for food packaging applications. *ACS applied materials & interfaces*, 9, 17476-88, 2017.
- [7] Yahia, Y., García-Villén, F., Djelad, A., Belaroui, L. S., Sanchez-Espejo, R., Sassi, M., López-Galindo, A., Viseras, C. Crosslinked palygorskite-chitosan beads as diclofenac carriers. *Applied Clay Science*, 180, 105169, 2019.
- [8] Chrissafis, K., Bikiaris, D. Can nanoparticles really enhance thermal stability of polymers? Part I: an overview on thermal decomposition of addition polymers. *Thermochimica Acta*, 523, 1-24, 2011.
- [9] Hojiyev, R., Ulcay, Y., Çelik, M. S. Development of a clay-polymer compatibility approach for nanocomposite applications. *Applied Clay Science*, 146, 548-56, 2017.
- [10] Wu, Y., Yang, W., Wang, C., Hu, J., Fu, S. Chitosan nanoparticles as a novel delivery system for ammonium glycyrrhizinate. *International journal of pharmaceuticals*, 295, 235-45, 2005.
- [11] Wu, J., Ding, S., Chen, J., Zhou, S., Ding, H. Preparation and drug release properties of chitosan/organomodified palygorskite microspheres. *International journal of biological macromolecules*, 68, 107-12, 2014.
- [12] Cheikh, D., García-Villén, F., Majdoub, H., Zayani, M. B., Viseras, C. Complex of chitosan pectin and clay as diclofenac carrier. *Applied Clay Science*, 172, 155-64, 2019.
- [13] Zhu, T. T., Zhou, C. H., Kabwe, F. B., Wu, Q. Q., Li, C. S., Zhang, J. R. Exfoliation of montmorillonite and related properties of clay/polymer nanocomposites. *Applied Clay Science*, 169, 48-66, 2019.
- [14] Huang, B., Liu, M., Zhou, C. Cellulose–halloysite nanotube composite hydrogels for curcumin delivery. *Cellulose*, 24, 2861-75, 2017.
- [15] Aguzzi, C., Capra, P., Bonferoni, C., Cerezo, P., Salcedo, I., Sánchez, R., Caramella, C., Viseras, C. Chitosan–silicate biocomposites to be used in modified drug release of 5-aminosalicylic acid (5-ASA). *Applied Clay Science*, 50, 106-11, 2010.
- [16] Cojocariu, A., Profire, L., Aflori, M., Vasile, C. In vitro drug release from chitosan/Cloisite 15A hydrogels. *Applied Clay Science*, 57, 1-9, 2012.
- [17] Huang, B., Liu, M., Zhou, C. Chitosan composite hydrogels reinforced with natural clay nanotubes. *Carbohydrate polymers*, 175, 689-98, 2017.
- [18] Kevadiya, B. D., Joshi, G. V., Mody, H. M., Bajaj, H. C. Biopolymer–clay hydrogel composites as drug carrier: host–guest intercalation and in vitro release study of lidocaine hydrochloride. *Applied Clay Science*, 52, 364-7, 2011.

- [19] Pacelli, S., Paolicelli, P., Moretti, G., Petralito, S., Di Giacomo, S., Vitalone, A., Casadei, M. A. Gellan gum methacrylate and laponite as an innovative nanocomposite hydrogel for biomedical applications. *European Polymer Journal*, 77, 114-23, 2016.
- [20] Rao, K. M., Nagappan, S., Seo, D. J., Ha, C.-S. pH sensitive halloysite-sodium hyaluronate/poly (hydroxyethyl methacrylate) nanocomposites for colon cancer drug delivery. *Applied clay science*, 97, 33-42, 2014.
- [21] Shi, K., Liu, Z., Yang, C., Li, X.-Y., Sun, Y.-M., Deng, Y., Wang, W., Ju, X.-J., Xie, R., Chu, L.-Y. Novel Biocompatible Thermoresponsive Poly (N-vinyl Caprolactam)/Clay Nanocomposite Hydrogels with Macroporous Structure and Improved Mechanical Characteristics. *ACS applied materials & interfaces*, 9, 21979-90, 2017.
- [22] Jafarbeglou, M., Abdouss, M., Shoushtari, A. M., Jafarbeglou, M. Clay nanocomposites as engineered drug delivery systems. *RSC Advances*, 6, 50002-16, 2016.
- [23] Yang, J.-H., Lee, J.-H., Ryu, H.-J., Elzatahry, A. A., Alothman, Z. A., Choy, J.-H. Drug-clay nanohybrids as sustained delivery systems. *Applied Clay Science*, 130, 20-32, 2016.
- [24] Sabbagh, N., Akbari, A., Arsalani, N., Eftekhari-Sis, B., Hamishekar, H. Halloysite-based hybrid bionanocomposite hydrogels as potential drug delivery systems. *Applied Clay Science*, 148, 48-55, 2017.
- [25] Salcedo, I., Sandri, G., Aguzzi, C., Bonferoni, C., Cerezo, P., Sánchez-Espejo, R., Viseras, C. Intestinal permeability of oxytetracycline from chitosan-montmorillonite nanocomposites. *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces*, 117, 441-8, 2014.
- [26] Ambrogi, V., Pietrella, D., Nocchetti, M., Casagrande, S., Moretti, V., De Marco, S., Ricci, M. Montmorillonite-chitosan-chlorhexidine composite films with antibiofilm activity and improved cytotoxicity for wound dressing. *Journal of colloid and interface science*, 491, 265-72, 2017.
- [27] Dziadkowiec, J., Mansa, R., Quintela, A., Rocha, F., Detellier, C. Preparation, characterization and application in controlled release of Ibuprofen-loaded Guar Gum/Montmorillonite Bionanocomposites. *Applied Clay Science*, 135, 52-63, 2017.
- [28] Chen, P., Xu, S., Wu, R., Wang, J., Gu, R., Du, J. A transparent Laponite polymer nanocomposite hydrogel synthesis via in-situ copolymerization of two ionic monomers. *Applied Clay Science*, 72, 196-200, 2013.
- [29] Cavallaro, G., Lazzara, G., Milioto, S., Parisi, F., Evtugyn, V., Rozhina, E., Fakhruddin, R. Nanohydrogel formation within the halloysite lumen for triggered and sustained release. *ACS applied materials & interfaces*, 10, 8265-73, 2018.
- [30] Cheikh, D., García-Villén, F., Majdoub, H., Viseras, C., Zayani, M. B. Chitosan/beidellite nanocomposite as diclofenac carrier. *International journal of biological macromolecules*, 126, 44-53, 2019.
- [31] Saha, N. R., Sarkar, G., Roy, I., Rana, D., Bhattacharyya, A., Adhikari, A., Mukhopadhyay, A., Chattopadhyay, D. Studies on methylcellulose/pectin/montmorillonite nanocomposite films and their application possibilities. *Carbohydrate polymers*, 136, 1218-27, 2016.
- [32] Thakur, G., Singh, A., Singh, I. Chitosan-montmorillonite polymer composites: Formulation and evaluation of sustained release tablets of aceclofenac. *Scientia pharmaceutica*, 84, 603-17, 2016.
- [33] Naumenko, E. A., Guryanov, I. D., Yendluri, R., Lvov, Y. M., Fakhruddin, R. F. Clay nanotube-biopolymer composite scaffolds for tissue engineering. *Nanoscale*, 8, 7257-71, 2016.
- [34] Luo, C., Yang, Q., Lin, X., Qi, C., Li, G. Preparation and drug release property of tanshinone IIA loaded chitosan-montmorillonite microspheres. *International journal of biological macromolecules*, 125, 721-9, 2019.
- [35] Zhang, Y., Chan, H. F., Leong, K. W. Advanced materials and processing for drug delivery: the past and the future. *Advanced drug delivery reviews*, 65, 104-20, 2013.
- [36] Karim, A. A., Dou, Q., Li, Z., Loh, X. J. Emerging supramolecular therapeutic carriers based on host-guest interactions. *Chemistry-An Asian Journal*, 11, 1300-21, 2016.
- [37] Li, Z., Loh, X. J. Recent advances of using polyhydroxyalkanoate-based nanovehicles as therapeutic delivery carriers. *Wiley Interdisciplinary Reviews: Nanomedicine and Nanobiotechnology*, 9, e1429, 2017.
- [38] Duncan, R. The dawning era of polymer therapeutics. *Nature reviews Drug discovery*, 2, 347, 2003.
- [39] Duncan, R. Polymer conjugates as anticancer nanomedicines. *Nature reviews cancer*, 6, 688, 2006.
- [40] Guaresti, O., García-Astrain, C., Aguirresarobe, R., Eceiza, A., Gabilondo, N. Synthesis of stimuli-responsive chitosan-based hydrogels by Diels-Alder cross-linking click' reaction as potential carriers for drug administration. *Carbohydrate polymers*, 183, 278-86, 2018.
- [41] Liu, Z., Jiao, Y., Wang, Y., Zhou, C., Zhang, Z. Polysaccharides-based nanoparticles as drug delivery systems. *Advanced drug delivery reviews*, 60, 1650-62, 2008.

- [42] Felt, O., Buri, P., Gurny, R. Chitosan: a unique polysaccharide for drug delivery. *Drug development and industrial pharmacy*, 24, 979-93, 1998.
- [43] Aranaz, I., Mengíbar, M., Harris, R., Paños, I., Miralles, B., Acosta, N., Galed, G., Heras, Á. Functional characterization of chitin and chitosan. *Current Chemical Biology*, 3, 203-30, 2009.
- [44] Croisier, F., Jérôme, C. Chitosan-based biomaterials for tissue engineering. *European Polymer Journal*, 49, 780-92, 2013.
- [45] Elsabee, M. Z., Abdou, E. S. Chitosan based edible films and coatings: A review. *Materials Science and Engineering: C*, 33, 1819-41, 2013.
- [46] Choi, C., Nam, J.-P., Nah, J.-W. Application of chitosan and chitosan derivatives as biomaterials. *Journal of Industrial and Engineering Chemistry*, 33, 1-10, 2016.
- [47] Morgado, P. I., Miguel, S. P., Correia, I. J., Aguiar-Ricardo, A. Ibuprofen loaded PVA/chitosan membranes: A highly efficient strategy towards an improved skin wound healing. *Carbohydr Polym*, 159, 136-45, 2017.
- [48] Tang, C., Guan, Y.-X., Yao, S.-J., Zhu, Z.-Q. Preparation of ibuprofen-loaded chitosan films for oral mucosal drug delivery using supercritical solution impregnation. *Int J Pharm*, 473, 434-41, 2014.
- [49] Howling, G. I., Dettmar, P. W., Goddard, P. A., Hampson, F. C., Dornish, M., Wood, E. J. The effect of chitin and chitosan on the proliferation of human skin fibroblasts and keratinocytes in vitro. *Biomaterials*, 22, 2959-66, 2001.
- [50] Alsarra, I. A. Chitosan topical gel formulation in the management of burn wounds. *International journal of biological macromolecules*, 45, 16-21, 2009.
- [51] Clasen, C., Wilhelms, T., Kulicke, W.-M. Formation and characterization of chitosan membranes. *Biomacromolecules*, 7, 3210-22, 2006.
- [52] Szymańska, E., Winnicka, K. Stability of chitosan—a challenge for pharmaceutical and bionanotechnology applications. *Marine drugs*, 13, 1819-46, 2015.
- [53] Jain, A., Gulbake, A., Shilpi, S., Jain, A., Hurkat, P., Jain, S. K. A new horizon in modifications of chitosan: syntheses and applications. *Critical Reviews™ in Therapeutic Drug Carrier Systems*, 30, 2013.
- [54] Asli, A., Brouillette, E., Ster, C., Ghinet, M. G., Brzezinski, R., Lacasse, P., Jacques, M., Malouin, F. Antibiofilm and antibacterial effects of specific chitosan molecules on *Staphylococcus aureus* isolates associated with bovine mastitis. *PloS one*, 12, e0176988, 2017.
- [55] Sudha, P. N., Saranya, M., Gomathi, T., Gokila, S., Aisvarya, S., Venkatesan, J., Anil, S. Perspectives of chitin-and chitosan-based scaffolds dressing in regenerative medicine. *Chitosan: Derivatives, Composites and Applications*, 255, 2017.
- [56] Berger, J., Reist, M., Mayer, J. M., Felt, O., Peppas, N., Gurny, R. Structure and interactions in covalently and ionically crosslinked chitosan hydrogels for biomedical applications. *European journal of pharmaceuticals and biopharmaceutics*, 57, 19-34, 2004.
- [57] Berger, J., Reist, M., Mayer, J. M., Felt, O., Gurny, R. Structure and interactions in chitosan hydrogels formed by complexation or aggregation for biomedical applications. *European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics*, 57, 35-52, 2004.
- [58] Dash, M., Chiellini, F., Ottenbrite, R. M., Chiellini, E. Chitosan—A versatile semi-synthetic polymer in biomedical applications. *Progress in polymer science*, 36, 981-1014, 2011.
- [59] De La Fuente, M., Raviña, M., Paolicelli, P., Sanchez, A., Seijo, B., Alonso, M. J. Chitosan-based nanostructures: a delivery platform for ocular therapeutics. *Advanced drug delivery reviews*, 62, 100-17, 2010.
- [60] Saber, A., Strand, S. P., Ulfendahl, M. Use of the biodegradable polymer chitosan as a vehicle for applying drugs to the inner ear. *European Journal of Pharmaceutical Sciences*, 39, 110-5, 2010.
- [61] Park, J. H., Saravanakumar, G., Kim, K., Kwon, I. C. Targeted delivery of low molecular drugs using chitosan and its derivatives. *Advanced drug delivery reviews*, 62, 28-41, 2010.
- [62] Pella, M. C., Lima-Tenório, M. K., Tenorio-Neto, E. T., Guilherme, M. R., Muniz, E. C., Rubira, A. F. Chitosan-based hydrogels: From preparation to biomedical applications. *Carbohydrate Polymers*, 196, 233-45, 2018.
- [63] Qin, Z.-Y., Jia, X.-W., Liu, Q., Kong, B.-H., Wang, H. Fast dissolving oral films for drug delivery prepared from chitosan/pullulan electrospinning nanofibers. *International journal of biological macromolecules*, 137, 224-31, 2019.
- [64] Naskar, S., Koutsu, K., Sharma, S. Chitosan-based nanoparticles as drug delivery systems: a review on two decades of research. *Journal of drug targeting*, 27, 379-93, 2019.
- [65] Lee, J. W., Park, J. H., Robinson, J. R. Bioadhesive-based dosage forms: The next generation. *Journal of pharmaceutical sciences*, 89, 850-66, 2000.
- [66] Sinha, V. R., Kumria, R. Polysaccharides in colon-specific drug delivery. *International journal of pharmaceuticals*, 224, 19-38, 2001.

- [67] Jain, S., Datta, M. Oral extended release of dexamethasone: Montmorillonite-PLGA nanocomposites as a delivery vehicle. *Applied Clay Science*, 104, 182-8, 2015.
- [68] Aguzzi, C., Cerezo, P., Viseras, C., Caramella, C. Use of clays as drug delivery systems: possibilities and limitations. *Applied Clay Science*, 36, 22-36, 2007.
- [69] Lambert, J. F., Bergaya, F., 2013. Smectites-Polymer Nanocomposites (Chapter 13.1). In: Bergaya, Lagaly (Eds.), *Handbook of Clay Science*. Vol. 5a. *Developments of Clay Science*, Elsevier. p. 679-706.
- [70] Bergaya, F., Detellier, C., Lambert, J.F., Lagaly, G., 2013. Introduction to Clay Polymer Nanocomposites (Cpn) (Chapter 13). In: Bergaya, Lagaly (Eds.), *Handbook of Clay Science*. *Developments of Clay Science* Vol. 5a. Elsevier. p. 655-77.
- [71] Jayrajsinh, S., Shankar, G., Agrawal, Y. K., Bakre, L. Montmorillonite nanoclay as a multifaceted drug-delivery carrier: A review. *Journal of Drug Delivery Science and Technology*, 39, 200-9, 2017.
- [72] Wiles, M. C., Huebner, H. J., Afriyie-Gyawu, E., Taylor, R. J., Bratton, G. R., Phillips, T. D. Toxicological evaluation and metal bioavailability in pregnant rats following exposure to clay minerals in the diet. *Journal of Toxicology and Environmental Health, Part A*, 67, 863-74, 2004.
- [73] Afriyie-Gyawu, E., Mackie, J., Dash, B., Wiles, M., Taylor, J., Huebner, H., Tang, L., Guan, H., Wang, J.-S., Phillips, T. Chronic toxicological evaluation of dietary NovaSil clay in Sprague-Dawley rats. *Food additives and contaminants*, 22, 259-69, 2005.
- [74] Hua, S., Yang, H., Wang, A. A pH-sensitive nanocomposite microsphere based on chitosan and montmorillonite with in vitro reduction of the burst release effect. *Drug development and industrial pharmacy*, 36, 1106-14, 2010.
- [75] Ainurofiq, A., Nurcahyo, I., Yulianto, R. Preparation, characterization and formulation of nanocomposite matrix na-montmorillonite intercalated medium molecular weight chitosan for theophylline sustained release tablet. *International Journal of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences*, 6, 131-7, 2014.
- [76] Kevadiya, B. D., Rajkumar, S., Bajaj, H. C. Application and evaluation of layered silicate-chitosan composites for site specific delivery of diclofenac. *Biocybernetics and Biomedical Engineering*, 35, 120-7, 2015.
- [77] Wang, X., Du, Y., Luo, J. Biopolymer/montmorillonite nanocomposite: preparation, drug-controlled release property and cytotoxicity. *Nanotechnology*, 19, 065707, 2008.
- [78] Gârea, S. A., Voicu, A. I., Iovu, H. Clay-Polymer Nanocomposites for Controlled Drug Release. *Clay-Polymer Nanocomposites*: Elsevier, 2017. p. 475-509.
- [79] Joshi, G. V., Kevadiya, B. D., Mody, H. M., Bajaj, H. C. Confinement and controlled release of quinine on chitosan-montmorillonite bionanocomposites. *Journal of Polymer Science Part A: Polymer Chemistry*, 50, 423-30, 2012.
- [80] Yuan, Q., Shah, J., Hein, S., Misra, R. Controlled and extended drug release behavior of chitosan-based nanoparticle carrier. *Acta biomaterialia*, 6, 1140-8, 2010.
- [81] Hua, S., Yang, H., Wang, W., Wang, A. Controlled release of ofloxacin from chitosan-montmorillonite hydrogel. *Applied Clay Science*, 50, 112-7, 2010.
- [82] Liu, K.-H., Liu, T.-Y., Chen, S.-Y., Liu, D.-M. Drug release behavior of chitosan-montmorillonite nanocomposite hydrogels following electrostimulation. *Acta Biomaterialia*, 4, 1038-45, 2008.
- [83] Li, J., Tian, S., Tao, Q., Zhao, Y., Gui, R., Yang, F., Zang, L., Chen, Y., Ping, Q., Hou, D. Montmorillonite/chitosan nanoparticles as a novel controlled-release topical ophthalmic delivery system for the treatment of glaucoma. *International journal of nanomedicine*, 13, 3975, 2018.
- [84] Salcedo, I., Aguzzi, C., Sandri, G., Bonferoni, M. C., Mori, M., Cerezo, P., Sánchez, R., Viseras, C., Caramella, C. In vitro biocompatibility and mucoadhesion of montmorillonite chitosan nanocomposite: A new drug delivery. *Applied clay science*, 55, 131-7, 2012.
- [85] Kimna, C., Deger, S., Tamburaci, S., Tihminlioglu, F. Chitosan/montmorillonite composite nanospheres for sustained antibiotic delivery at post-implantation bone infection treatment. *Biomedical materials*, 14, 044101, 2019.
- [86] Cojocariu, A., Porfire, L., Cheaburu, C., Vasile, C. Chitosan/montmorillonite composites as matrices for prolonged delivery of some novel nitric oxide donor compounds based on theophylline and paracetamol. *Cellulose Chemistry and Technology*, 46, 35, 2012.
- [87] Hou, D., Gui, R., Hu, S., Huang, Y., Feng, Z., Ping, Q. Preparation and characterization of novel drug-inserted-montmorillonite chitosan carriers for ocular drug delivery. *Advances in nanoparticles*, 4, 70, 2015.
- [88] Banik, N., Hussain, A., Ramteke, A., Sharma, H. K., Maji, T. K. Preparation and evaluation of the effect of particle size on the properties of chitosan-montmorillonite nanoparticles loaded with isoniazid. *RSC advances*, 2, 10519-28, 2012.
- [89] Thakur, G., Singh, A., Singh, I. Formulation and evaluation of transdermal composite films of chitosan-

- montmorillonite for the delivery of curcumin. *International journal of pharmaceutical investigation*, 6, 23, 2016.
- [90] Zhou, H. R., Jiang, H., Fang, X. J., Zhao, S., Guo, C. Preparation and sustained-release testing of chitosan/montmorillonite/acetaminophen microspheres. *Advanced Materials Research: Trans Tech Publ*; 2013. p. 112-6.
- [91] Organization., W. H. WHO Model List of Essential Medicines. 2013.
- [92] Urbańska, J., Karewicz, A., Nowakowska, M. Polymeric delivery systems for dexamethasone. *Life sciences*, 96, 1-6, 2014.
- [93] Hurson, C. J., Butler, J. S., Keating, D. T., Murray, D. W., Sadlier, D. M., O'byrne, J. M., Doran, P. P. Gene expression analysis in human osteoblasts exposed to dexamethasone identifies altered developmental pathways as putative drivers of osteoporosis. *BMC musculoskeletal disorders*, 8, 12, 2007.
- [94] Goodwin, J. E., Zhang, J., Gonzalez, D., Albinsson, S., Geller, D. S. Knockout of the vascular endothelial glucocorticoid receptor abrogates dexamethasone-induced hypertension. *Journal of hypertension*, 29, 1347, 2011.
- [95] Rhen, T., Cidlowski, J. A. Antiinflammatory action of glucocorticoids—new mechanisms for old drugs. *New England Journal of Medicine*, 353, 1711-23, 2005.
- [96] F Dos Santos, B., Maciel, M., A Tavares, A., Qb De Araújo Fernandes, C., B De Sousa, W., Lia Fook, M., Farias Leite, I., De Lima Silva, S. Synthesis and preparation of chitosan/clay microspheres: Effect of process parameters and clay type. *Materials*, 11, 2523, 2018.
- [97] Darder, M., Colilla, M., Ruiz-Hitzky, E. Chitosan–clay nanocomposites: application as electrochemical sensors. *Applied Clay Science*, 28, 199-208, 2005.
- [98] Utracki, L. A. Clay-containing polymeric nanocomposites: Rapra Technology Limited; 2004.
- [99] Oliveira, S. S. L., Oliveira, H. F. M., Fook, M. V. L. Arcabouços obtidos por agregação de esferas de quitosana/hidroxiapatita. *Revista Eletrônica de Materiais e Processos*, 10, 128-36, 2015.
- [100] De Paiva, L., Morales, A., Díaz, F. V. Argilas organofílicas: características, metodologias de preparação, compostos de intercalação e técnicas de caracterização. *Cer*, 2008.
- [101] Baskar, D., Sampath Kumar, T. S. Effect of deacetylation time on the preparation, properties and swelling behavior of chitosan films. *Carbohydr Polym*, 78, 767-72, 2009.
- [102] Lima, R. Desenvolvimento de Sistemas de Liberação Controlada de Fármacos: Quitosana/Insulina. 2010. 112f: Tese (Doutorado em Engenharia de Processos). Curso de Engenharia de Processos da Universidade Federal de Campina Grande; 2010.
- [103] Luo, D., Sang, L., Wang, X., Xu, S., Li, X. Low temperature, pH-triggered synthesis of collagen–chitosan–hydroxyapatite nanocomposites as potential bone grafting substitutes. *Mater Lett*, 65, 2395-7, 2011.
- [104] Ogawa, K., Yui, T., Miya, M. Dependence on the preparation procedure of the polymorphism and crystallinity of chitosan membranes. *Bioscience, biotechnology, and biochemistry*, 56, 858-62, 1992.
- [105] Depan, D., Kumar, A. P., Singh, R. P. Cell proliferation and controlled drug release studies of nanohybrids based on chitosan-g-lactic acid and montmorillonite. *Acta biomaterialia*, 5, 93-100, 2009.
- [106] Bastos, F. L. a. D. G. Desenvolvimento e incorporação de nanocristais de Dexametasona em sistemas poliméricos híbridos orgânico-inorgânicos para administração cutânea.: Universidade Estadual Paulista Julio de Mesquita Filho; 2015.