



UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO

FACULDADE DE CIÊNCIAS FARMACÊUTICAS DE RIBEIRÃO PRETO

Desenvolvimento de sistemas de liberação compostos pelo conjugado quitosana-arginina visando o tratamento tópico de feridas

Danielle Nishida Ramos Shikida

**Ribeirão Preto
2019**

UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO

Faculdade de Ciências Farmacêuticas de Ribeirão Preto

Desenvolvimento de sistemas de liberação compostos pelo conjugado quitosana-arginina visando o tratamento tópico de feridas

Tese de Doutorado apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciências Farmacêuticas da Faculdade de Ciências Farmacêuticas de Ribeirão Preto/USP para obtenção do Título de Doutor em Ciências

Área de Concentração: Medicamentos e cosméticos

Orientada: Danielle Nishida Ramos Shikida

Orientadora: Profa. Dra. Renata Fonseca Vianna Lopez

Versão corrigida da Tese de Doutorado apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciências Farmacêuticas em 03/09/2019. A versão original encontra-se disponível na Faculdade de Ciências Farmacêuticas de Ribeirão Preto/USP.

Ribeirão Preto

2019

RESUMO

SHIKIDA, D. N. R. **Desenvolvimento de sistemas de liberação compostos pelo conjugado quitosana-arginina visando o tratamento tópico de feridas**. 2019. 91f. Tese (Doutorado). Faculdade de Ciências Farmacêuticas de Ribeirão Preto – Universidade de São Paulo, Ribeirão Preto, 2019.

A arginina é um aminoácido condicionalmente essencial no processo de cicatrização. Catabolizada pela óxido nítrico sintase e arginases, a arginina é rapidamente depletada durante o processo de cicatrização de feridas crônicas, dificultando a síntese de colágeno e outras proteínas que contribuem para a regeneração tecidual. A administração de arginina no local da ferida pode compensar sua deficiência. Para evitar seu rápido metabolismo e promover a liberação sustentada, neste trabalho a arginina foi conjugada à quitosana (CHITARG) e este polímero foi utilizado para a preparação de nanopartículas (NP-CHITARG). O potencial de NP-CHITARG para encapsular a arginina foi investigada. O conjugado CHITARG foi caracterizado por RMN, TGA, DSC e morfologia por MEV. NP-CHITARG, obtida por um método de nanoprecipitação, foi caracterizada em termos de tamanho, polidispersidade, potencial zeta, morfologia e eficiência de encapsulação da arginina. Para fins de comparação, nanopartículas preparadas com quitosana (NP-CHIT) também foram avaliadas. A citotoxicidade das NP-CHITARG foi investigada em cultura de fibroblastos. Por fim, estudos *in vivo* em feridas induzidas em ratos *Wistar Hannover* foram realizados com as formulações espessadas com hidroxietilcelulose (HEC). Neles foram investigados o índice de cicatrização (IC), níveis das enzimas mieloperoxidase (MPO) e N-acetil- β -D-glicosaminidase (NAG) e nível de hidroxiprolina nas feridas após 3, 10 e 20 dias do tratamento. NP-CHIT e NP-CHITARG apresentaram tamanho nanométrico, 57 e 56nm, respectivamente, potencial zeta positivo e pH 6. A adição de arginina a quitosana ou as dispersões de CHITARG aumentou aproximadamente 2 vezes o tamanho das nanopartículas e diminuiu o pH das dispersões para 5,5, no caso da NP-CHITARG, e para 5,0, no caso da NP-CHIT. NP-CHITARG foi capaz de encapsular cerca de 36% de arginina a partir da concentração inicial de 10 mg. A eficiência de encapsulação da NP-CHIT, por outro lado, foi de 13%. A redispersão das nanopartículas em água mantiveram a arginina encapsulada, com apenas 9,1 e 1,6% de liberação, a partir da NP-CHIT e da NP-CHITARG, respectivamente, imediatamente após a redispersão. As dispersões mantiveram-se estáveis, sem liberação de arginina excedente, por até 48h. As nanopartículas não foram citotóxicas para os fibroblastos. *In vivo*, todas as feridas cicatrizaram após 20 dias de tratamento, inclusive aquelas tratadas com a formulação controle negativo (composta apenas por HEC), apresentando todas ICs semelhantes. As análises bioquímicas mostraram, no entanto, diferenças no padrão de cicatrização. As amostras de pele tratadas com as NP-CHITARG, contendo ou não arginina, apresentaram níveis de MPO semelhantes ao presente na pele íntegra (sem ferida), o que não ocorreu com as formulações que não continham nanopartículas e nem com a NP-CHIT. Os níveis de NAG, por sua vez, mantiveram-se semelhantes aos da pele íntegra apenas quando as feridas foram tratadas com a NP-CHITARG que continha arginina encapsulada. Esse tratamento também resultou, após 20 dias, em níveis de hidroxiprolina semelhantes ao presente na pele sem ferida. Desta forma, foi possível sintetizar o conjugado CHITARG, preparar nanopartículas a partir dele e encapsular a arginina. O tratamento das feridas com as NP-CHITARG, principalmente com a NP-CHITARG contendo arginina, parecem ter evitado um processo inflamatório acentuado durante o processo de cicatrização. Mais ainda, esse tratamento possibilitou o fechamento da ferida e deu origem a um tecido com conteúdo de colágeno semelhante aquele presente na pele íntegra.

Palavras-chave: conjugado quitosana-arginina; cicatrização; tratamento tópico; sistema de liberação; nanopartícula

ABSTRACT

SHIKIDA, D. N. R. **Development of arginine delivery systems composed of chitosan-arginine conjugate aiming topical treatment of wounds**. 2019. 91f. Thesis (Doctoral). Faculdade de Ciências Farmacêuticas de Ribeirão Preto – Universidade de São Paulo, Ribeirão Preto, 2019.

Arginine is a conditionally essential amino acid in the healing process. Catabolized by nitric oxide synthase and arginases, arginine is rapidly depleted during the healing process of chronic wounds, hampering the synthesis of collagen and other proteins that contribute to tissue regeneration. The administration of arginine at the wound site can compensate for its deficiency. To avoid its rapid metabolism and promote sustained release, in this work arginine was conjugated to chitosan (CHITARG) and this polymer was used for the preparation of nanoparticles (NP-CHITARG). The potential of NP-CHITARG to encapsulate arginine was investigated. The CHITARG conjugate was characterized by NMR, TGA, DSC and morphology by MEV. NP-CHITARG, obtained by a modified nanoprecipitation method, was characterized in terms of size, polydispersity, zeta potential, morphology and encapsulation efficiency of arginine. For comparison purposes, nanoparticles prepared with chitosan (NP-CHIT) were also evaluated. The cytotoxicity of NP-CHITARG was investigated in culture of fibroblasts. Finally, *in vivo* studies on wounds induced in *Wistar Hannover* rats were performed with the formulations thickened with hydroxyethylcellulose (HEC). In these studies, the healing rate (HR), myeloperoxidase (MPO), N-acetyl- β -D-glucosaminidase (NAG) and hydroxyproline levels in the wounds were investigated after 3, 10 and 20 days of treatment. NP-CHIT and NP-CHITARG showed nanometric size, 57 and 56 nm, respectively, positive zeta potential and pH 6. Addition of arginine to polymers dispersions increased about 2-fold the size of the nanoparticles and decreased the pH of the dispersions to 5.5, in the case of NP-CHITARG, and to 5.0, in the case of NP-CHIT. NP-CHITARG was able to encapsulate about 36% of arginine from the initial concentration of 10 mg. The NP-CHIT encapsulation efficiency, on the other hand, was 13%. Redispersion of the nanoparticles in water maintained arginine encapsulated, with only 9.1 and 1.6% release, from NP-CHIT and NP-CHITARG, respectively, immediately after redispersion. The dispersions remained stable, with no release of excess arginine, for up to 48h. Nanoparticles were not cytotoxic to fibroblasts. *In vivo*, all wounds healed after 20 days of treatment, including those treated with the negative control formulation (composed only by HEC), showing all similar HR. The biochemical analyzes showed, however, differences in the pattern of healing. Skin samples treated with NP-CHITARG, containing or not arginine, showed levels of MPO similar to that present in intact skin (without wound), which did not occur with the formulations that did not contain nanoparticles nor with the NP-CHIT. NAG levels remained similar to present in intact skin only when wounds were treated with arginine-loaded NP-CHITARG. This treatment also resulted, after 20 days, in hydroxyproline levels similar to the one present on the skin without wound. In conclusion, it was possible to synthesize the CHITARG conjugate, prepare nanoparticles from it and encapsulate arginine. The treatment of wounds with NP-CHITARG, especially with arginine-loaded NP-CHITARG, seems to avoid an accentuated inflammatory process during the wound healing. Furthermore, it allowed the wound to close and gave rise to a tissue with similar collagen content of that present in the healthy skin.

Keywords: arginine-conjugated chitosan; healing; topical treatment; release system; nanoparticle

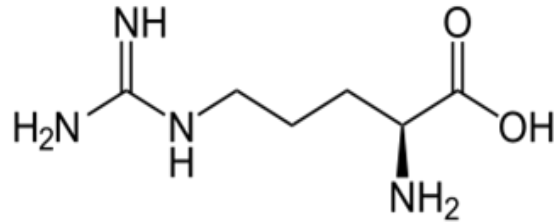
1. INTRODUÇÃO

A mucosa, a córnea e a pele são estruturas que estão na interface do organismo humano com o ambiente e tem como uma de suas funções a proteção dos tecidos subjacentes contra a entrada de parasitas, microrganismos e substâncias nocivas. O tecido epitelial que constitui essas interfaces apresenta forte coesão, o que mantém sua integridade estrutural e assegura sua competência funcional. Qualquer trauma causado a estes tecidos desencadeia um desequilíbrio fisiológico que pode resultar em processo inflamatório e gerar feridas (GURTNER et al., 2008). Nesses casos, substâncias liberadas pelas células dos tecidos lesados acionam sistemas de reparo que resultam na cicatrização. No entanto, em situações como idade avançada, obesidade, imunossupressão e diabetes, o organismo apresenta um retardo neste processo, resultando em feridas crônicas. Na maioria dos casos, o processo de cicatrização nessas situações apresenta velocidade similar de progressão e de reparo (STEED, 2003), além de um ambiente excessivamente inflamatório (DIEGELMANN, 2003; LOBMANN; SCHULTZ; LEHNERT, 2005), impedindo o fechamento adequado da ferida e resultando em dores e infecções.

Para auxiliar no tratamento de feridas crônicas, mediadores que participam do processo de cicatrização podem ser administrados num espaço temporal adequado na tentativa de acelerar ou modular este processo e, assim, contribuir para a restauração da atividade funcional do tecido.

Dentre os mediadores que tem papel importante no processo de cicatrização e pode ser útil se administrado de maneira controlada está a arginina (Figura 1). Ela é um aminoácido condicionalmente essencial no processo de cicatrização (ALBINA et al., 1988). Pode ser catabolizada pela óxido nítrico sintetase (NOS), produzindo óxido nítrico (NO), e pela arginase. A arginase é uma enzima que participa dos processos de síntese de colágeno e proliferação celular através da transformação de arginina em ornitina, sendo esta última precursora de prolina e poliaminas (WITTE; BARBUL, 2003; CAMPBELL et al., 2013).

Figura 1 - Estrutura molecular da arginina



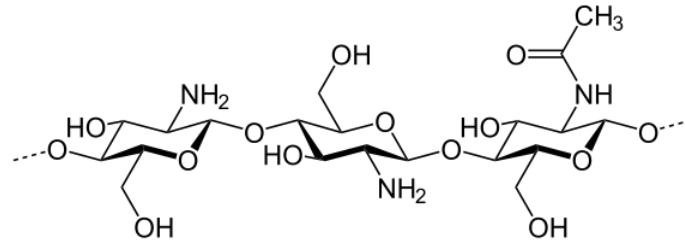
A arginina serve, portanto, de substrato tanto para a NOS como para as arginases e acaba sendo depletada rapidamente durante o processo de cicatrização (CURRIE; GYURE; CIFUENTES, 1979; ALBINA et al., 1988). A sua depleção prejudica a síntese de colágeno e de outras proteínas que contribuiriam para a formação ou regeneração do novo tecido. Desta forma, a administração exógena de arginina já mostrou melhorar parcialmente a cicatrização debilitada de feridas em animais diabéticos (WITTE et al., 2002; SHI et al., 2003).

A arginina, no entanto, é rapidamente metabolizada quando administrada no leito da ferida (ALBINA et al., 1990) carecendo de sistemas de liberação que a forneçam ao ambiente machucado, normalmente inflamado, de maneira sustentada. Um dos sistemas de liberação promissores para este fim são as nanopartículas poliméricas biodegradáveis (NP). Além de serem biocompatíveis, as NP podem carrear fármacos com diferentes polaridades e massas moleculares, como peptídeos e proteínas, sustentar e direcionar sua liberação para locais específicos e aumentar, assim, a eficácia terapêutica (KUMARI; YADAV; YADAV, 2010).

Um dos materiais mais estudados nos últimos anos para o preparo de NP é a quitosana (Figura 2). Ela é um polímero derivado de um polímero natural (quitina), não-tóxico, biocompatível e biodegradável, que tem propriedades mucoadesivas (LEHR et al., 1992) e antimicrobianas (GOY; BRITTO; ASSIS, 2009). NP de quitosana já foram desenvolvidas e estudadas para diversos fins, dentre eles, para o tratamento de tumores a partir da administração intravenosa com um derivado de doxorrubicina (MITRA et al., 2001), para administração oral (SARMENTO et al., 2007) e vaginal (MARCIELLO et al., 2017) de insulina. Em formulações para uso tópico na pele, no entanto, a quitosana é manipulada normalmente na forma de hidrogel ou filme (SEZER et al., 2007; DE SANTANA et al., 2010; GRATIERI et al., 2010, 2011). A simples dispersão da arginina livre nessas formulações não garante,

no entanto, sua biodisponibilidade no leito da ferida e atividade prolongada.

Figura 2 - Estrutura molecular da quitosana



Para potencializar as propriedades da quitosana como sistema de liberação de fármacos, modificações têm sido feitas em sua estrutura. Neste sentido, a quitosana já foi conjugada à arginina para conferir ao biomaterial propriedades anticoagulantes (LIU et al., 2004), antibacterianas (TANG et al., 2010; XIAO et al., 2011), de transfecção de genes (MANSOURI et al., 2004; ZHU et al., 2007; GAO et al., 2008; MORRIS; SHARMA, 2010; LV et al., 2011; ZHANG et al., 2011) e cicatrizantes (ANTUNES et al., 2015).

Com isso em mente, a construção deste trabalho baseou-se na hipótese de que conjugados de quitosana e arginina (CHITARG) poderiam servir de material de partida para o preparo de NP capazes de encapsular arginina. Assim, essas NP, além de possuírem a arginina, condicional para a cicatrização das feridas crônicas, em sua estrutura, também a teriam encapsulada, para liberação modulada em todo o processo de cicatrização.

Desta forma, no presente trabalho, o conjugado CHITARG foi obtido e caracterizado para criar uma plataforma capaz de formar NP-CHITARG. O potencial das NP-CHITARG formadas em encapsular a própria arginina, além de apresentar este aminoácido em sua estrutura, foi também avaliado. Incorporada em uma formulação semissólida para ser administrada topicamente no leito de feridas crônicas, a influência tanto da CHITARG como da arginina encapsulada em diferentes etapas do processo de cicatrização foi avaliada *in vivo* em modelo animal de ferida crônica.

6. CONCLUSÕES

No processo de realização desse projeto, foi obtido um biopolímero semissintético (CHITARG), proveniente da quitosana, que apresentou propriedades distintas do seu material de origem. A partir desse novo polímero, foi possível preparar NPs e encapsular arginina a elas. Assim, a dispersão CHITARG se mostrou como uma plataforma promissora para a obtenção de sistemas de liberação nanoparticulados. A dispersão de NP-CHITARG-10 obtida mostrou ser capaz de manter a arginina encapsulada por longos períodos, indicando alta estabilidade. Estudos *in vitro* demonstraram ausência de toxicidade dos novos produtos obtidos para fibroblastos, possibilitando sua aplicação em feridas. Diferenças entre os biomateriais de partida além das distinções de resultados para NP-CHITARG e NP-CHIT sugerem que as dispersões de NPs obtidas com esses dois polímeros possam resultar em resposta biológica diversa quando aplicada em feridas. Apesar dos animais apresentarem uma cicatrização rápida (em 20 dias), foi possível observar que as formulações desenvolvidas foram capazes de modular os fenômenos inflamatórios e proliferativos demonstrando o potencial da plataforma para o tratamento de feridas, sendo que NP-CHITARG-10 foi a formulação que melhor modulou a inflamação com baixos índices de MPO (relativo a atividade de neutrófilos) e NAG (relativo a atividade de macrófagos), além de uma maior concentração de hidroxiprolina (que constitui o colágeno) ao fim do estudo, mostrando-se mais semelhante ao grupo controle (sem ferida).

7. REFERÊNCIAS

- ABDULLAH, A. et al. Visible scars and self-esteem in pediatric patients with burns. **The Journal of burn care & rehabilitation**, v. 15, n. 2, p. 164–8, 1994. Disponível em: <<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/8195258>>. Acesso em: 10 jul. 2019.
- AGÊNCIA NACIONAL DE VIGILÂNCIA SANITÁRIA (ANVISA). **Resolução RDC nº 166**. [s.l.: s.n.]. Disponível em: <<https://www20.anvisa.gov.br/coifa/pdf/rdc166.pdf>>. Acesso em: 12 jul. 2019.
- AJUN, W. et al. Preparation of aspirin and probucol in combination loaded chitosan nanoparticles and in vitro release study. **Carbohydrate Polymers**, v. 75, n. 4, p. 566–574, 24 fev. 2009. Disponível em:

<<https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0144861708004062>>. Acesso em: 12 jul. 2019.

ALBINA, J. E. et al. Arginine metabolism in wounds. **The American journal of physiology**, v. 254, n. 4 Pt 1, p. E459-67, abr. 1988. Disponível em:

<<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/3354662>>. Acesso em: 14 jan. 2019.

ALBINA, J. E. et al. Temporal expression of different pathways of 1-arginine metabolism in healing wounds. **Journal of immunology (Baltimore, Md. : 1950)**, v. 144, n. 10, p. 3877–80, 15 maio 1990. Disponível em:

<<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/2332635>>. Acesso em: 14 jan. 2019.

ALLÉMANN, E.; LEROUX, J.-C.; GURNY, R. Polymeric nano- and microparticles for the oral delivery of peptides and peptidomimetics. **Advanced Drug Delivery Reviews**, v. 34, n. 2–3, p. 171–189, 1 dez. 1998. Disponível em:

<<https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0169409X98000398>>. Acesso em: 10 jul. 2019.

ANDRADE CUNHA, D. et al. Extra-pancreatic insulin production in RAT lachrymal gland after streptozotocin-induced islet β -cells destruction. **Biochimica et Biophysica Acta (BBA) - General Subjects**, v. 1770, n. 8, p. 1128–1135, 1 ago. 2007. Disponível em:

<<https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0304416507001146>>. Acesso em: 14 jan. 2019.

ANTUNES, B. P. et al. Chitosan/arginine–chitosan polymer blends for assembly of nanofibrous membranes for wound regeneration. **Carbohydrate Polymers**, v. 130, p. 104–112, 5 out. 2015. Disponível em:

<<https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0144861715003999>>. Acesso em: 14 jan. 2019.

ASHCROFT, G. S.; HORAN, M. A.; FERGUSON, M. W. J. Aging Is Associated with Reduced Deposition of Specific Extracellular Matrix Components, an Upregulation of Angiogenesis, and an Altered Inflammatory Response in a Murine Incisional Wound Healing Model. **Journal of Investigative Dermatology**, v. 108, n. 4, p. 430–437, 1 abr. 1997. Disponível em:

<<https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0022202X15428507>>. Acesso em: 9 jul. 2019.

ASHRAF, J. M. et al. 3-Deoxyglucosone: A Potential Glycating Agent Accountable

for Structural Alteration in H3 Histone Protein through Generation of Different AGEs.

PLOS ONE, v. 10, n. 2, p. e0116804, 17 fev. 2015. Disponível em:

<<http://dx.plos.org/10.1371/journal.pone.0116804>>. Acesso em: 2 jul. 2019.

AVADI, M. R. et al. Preparation and characterization of insulin nanoparticles using chitosan and Arabic gum with ionic gelation method. **Nanomedicine:**

Nanotechnology, Biology and Medicine, v. 6, n. 1, p. 58–63, 1 fev. 2010.

Disponível em:

<<https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S1549963409000926>>.

Acesso em: 10 jul. 2019.

BAGHERPOUR, A. R. et al. L-arginine modified magnetic nanoparticles: green synthesis and characterization. **Nanotechnology**, v. 29, n. 7, p. 075706, 16 fev. 2018. Disponível em: <<http://stacks.iop.org/0957-4484/29/i=7/a=075706?key=crossref.d66b2072c88af08758c756027f61837e>>.

Acesso em: 2 jul. 2019.

BAILEY, A. J. et al. Collagen polymorphism in experimental granulation tissue.

Biochemical and biophysical research communications, v. 66, n. 4, p. 1160–5, 27 out. 1975. Disponível em: <<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/1191284>>.

Acesso em: 10 jul. 2019.

BAILEY, P. J. Sponge implants as models. **Methods in Enzymology**, v. 162, p. 327–334, 1988. Disponível em:

<<https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/0076687988620878?via%3Dihub>>

. Acesso em: 5 jul. 2019.

BAROLI, B. et al. Penetration of Metallic Nanoparticles in Human Full-Thickness Skin. **Journal of Investigative Dermatology**, v. 127, n. 7, p. 1701–1712, jul. 2007. Disponível em: <<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/17380118>>. Acesso em: 10 jul. 2019.

BARRIENTOS, S. et al. Growth factors and cytokines in wound healing. **Wound Repair and Regeneration**, v. 16, n. 5, p. 585–601, 1 set. 2008. Disponível em:

<<http://doi.wiley.com/10.1111/j.1524-475X.2008.00410.x>>. Acesso em: 10 jul. 2019.

BASTA, G. et al. Advanced Glycation End Products Activate Endothelium Through Signal-Transduction Receptor RAGE. **Circulation**, v. 105, n. 7, p. 816–822, 19 fev. 2002. Disponível em: <<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/11854121>>. Acesso em: 9 jul. 2019.

Acesso em: 9 jul. 2019.

Acesso em: 9 jul. 2019.

Acesso em: 9 jul. 2019.

BOATENG, J. S. et al. Wound Healing Dressings and Drug Delivery Systems: A Review. **Journal of Pharmaceutical Sciences**, v. 97, n. 8, p. 2892–2923, 1 ago. 2008. Disponível em:

<<https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0022354916326521>>. Acesso em: 10 jul. 2019.

BRYCH, S. B. et al. Time off work and return to work rates after burns: systematic review of the literature and a large two-center series. **The Journal of burn care & rehabilitation**, v. 22, n. 6, p. 401–5, 2001. Disponível em:

<<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/11761392>>. Acesso em: 10 jul. 2019.

CAETANO, G. F. et al. Chitosan-alginate membranes accelerate wound healing. **Journal of Biomedical Materials Research Part B: Applied Biomaterials**, v. 103, n. 5, p. 1013–1022, 1 jul. 2015. Disponível em:

<<http://doi.wiley.com/10.1002/jbm.b.33277>>. Acesso em: 6 jul. 2019.

CAMPBELL, L. et al. Local Arginase 1 Activity Is Required for Cutaneous Wound Healing. **Journal of Investigative Dermatology**, v. 133, n. 10, p. 2461–2470, 1 out. 2013. Disponível em:

<<https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0022202X15360024>>. Acesso em: 14 jan. 2019.

CAMPOS, A. C.; GROTH, A. K.; BRANCO, A. B. Assessment and nutritional aspects of wound healing. **Current Opinion in Clinical Nutrition and Metabolic Care**, v. 11, n. 3, p. 281–288, maio 2008. Disponível em:

<<https://insights.ovid.com/crossref?an=00075197-200805000-00015>>. Acesso em: 10 jul. 2019.

CLARES, B. et al. Nanoemulsions (NEs), liposomes (LPs) and solid lipid nanoparticles (SLNs) for retinyl palmitate: Effect on skin permeation. **International Journal of Pharmaceutics**, v. 473, n. 1–2, p. 591–598, 1 out. 2014. Disponível em:

<<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/25102113>>. Acesso em: 10 jul. 2019.

CRUZ-CAZARIM, E. L. C. et al. Prospective insulin-based ophthalmic delivery systems for the treatment of dry eye syndrome and corneal injuries. **European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics**, v. 140, p. 1–10, 1 jul. 2019.

Disponível em:

<<https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0939641119300633?via%3Dihub>>. Acesso em: 3 jul. 2019.

CUBAYACHI, C. **Avaliação de formulações a base de fibroína da seda e insulina no tratamento tópico de feridas oculares**. 2018. Faculdade de Ciências Farmacêuticas de Ribeirão Preto (FCFRP) - Universidade de São Paulo (USP), 2018.

CURRIE, G. A.; GYURE, L.; CIFUENTES, L. Microenvironmental arginine depletion by macrophages in vivo. **British Journal of Cancer**, v. 39, n. 6, p. 613–620, jun. 1979. Disponível em: <<http://www.nature.com/articles/bjc1979112>>. Acesso em: 8 jul. 2019.

DALMOLIN, L. F.; LOPEZ, R. F. V. Nanoemulsion as a Platform for Iontophoretic Delivery of Lipophilic Drugs in Skin Tumors. **Pharmaceutics**, v. 10, n. 4, p. 214, 4 nov. 2018. Disponível em: <<http://www.mdpi.com/1999-4923/10/4/214>>. Acesso em: 10 jul. 2019.

DE GROOTE, M. A.; FANG, F. C. NO Inhibitions: Antimicrobial Properties of Nitric Oxide. **Clinical Infectious Diseases**, v. 21, n. Supplement_2, p. S162–S165, 1 out. 1995. Disponível em: <http://academic.oup.com/cid/article/21/Supplement_2/S162/312529/NO-Inhibitions-Antimicrobial-Properties-of-Nitric>. Acesso em: 14 jan. 2019.

DE SANTANA, D. C. A. S. et al. Nitric oxide photorelease from hydrogels and from skin containing a nitro-ruthenium complex. **International Journal of Pharmaceutics**, v. 391, n. 1–2, p. 21–28, 31 maio 2010. Disponível em: <<https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0378517310001055>>. Acesso em: 14 jan. 2019.

DHIVYA, S.; PADMA, V. V.; SANTHINI, E. Wound dressings - a review. **BioMedicine**, v. 5, n. 4, p. 24–28, dez. 2015. Disponível em: <<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/26615539>>. Acesso em: 10 jul. 2019.

DIEGELMANN, R. F. Excessive neutrophils characterize chronic pressure ulcers. **Wound Repair and Regeneration**, v. 11, n. 6, p. 490–495, 1 nov. 2003. Disponível em: <<http://doi.wiley.com/10.1046/j.1524-475X.2003.11617.x>>. Acesso em: 14 jan. 2019.

DIVYA, K.; JISHA, M. S. Chitosan nanoparticles preparation and applications. **Environmental Chemistry Letters**, v. 16, n. 1, p. 101–112, 31 mar. 2018. Disponível em: <<http://link.springer.com/10.1007/s10311-017-0670-y>>. Acesso em: 11 jul. 2019.

DONG, L. et al. Structural modification and digestibility change of β -lactoglobulin modified by methylglyoxal with the simulated reheating of dairy products. **Food Chemistry**, v. 288, p. 276–282, 1 ago. 2019. Disponível em:

<<https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0308814619304741>>. Acesso em: 2 jul. 2019.

DUTTA, P. K. et al. Perspectives for chitosan based antimicrobial films in food applications. **Food Chemistry**, v. 114, n. 4, p. 1173–1182, 15 jun. 2009. Disponível em: <<https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0308814608013629>>.

Acesso em: 12 jul. 2019.

ELLIOT, S. et al. A Modeling Conundrum: Murine Models for Cutaneous Wound Healing. **Journal of Investigative Dermatology**, v. 138, n. 4, p. 736–740, abr. 2018. Disponível em: <<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/29579457>>. Acesso em: 3 jul. 2019.

FAUERBACH, J. A. et al. Effect of early body image dissatisfaction on subsequent psychological and physical adjustment after disfiguring injury. **Psychosomatic medicine**, v. 62, n. 4, p. 576–82, 2000. Disponível em:

<<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/10949104>>. Acesso em: 10 jul. 2019.

FERNANDES, R. et al. Interactions of Skin with Gold Nanoparticles of Different Surface Charge, Shape, and Functionality. **Small**, v. 11, n. 6, p. 713–721, 11 fev. 2015. Disponível em: <<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/25288531>>. Acesso em: 10 jul. 2019.

FERNÁNDEZ- URRUSUNO, R. et al. Enhancement of Nasal Absorption of Insulin Using Chitosan Nanoparticles. **Pharmaceutical Research**, v. 16, n. 10, p. 1576–1581, 1999. Disponível em: <<http://link.springer.com/10.1023/A:1018908705446>>.

Acesso em: 11 jul. 2019.

FLEISCHMAJER, R. et al. Ultrastructural identification of extension aminoproteptides of type I and III collagens in human skin. **Proceedings of the National Academy of Sciences**, v. 78, n. 12, p. 7360–7364, 1 dez. 1981.

Disponível em: <<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/7038677>>. Acesso em: 9 jul. 2019.

FRONZA, M. et al. Hyaluronidase Modulates Inflammatory Response and Accelerates the Cutaneous Wound Healing. **PLoS ONE**, v. 9, n. 11, p. e112297, 13 nov. 2014. Disponível em: <<http://dx.plos.org/10.1371/journal.pone.0112297>>.

Acesso em: 11 jul. 2019.

FRYKBERG, R. G.; BANKS, J. Challenges in the Treatment of Chronic Wounds. **Advances in Wound Care**, v. 4, n. 9, p. 560–582, 3 set. 2015. Disponível em: <<http://www.liebertpub.com/doi/10.1089/wound.2015.0635>>. Acesso em: 10 jul. 2019.

GABBIANI, G. et al. Collagen and myofibroblasts of granulation tissue. **Virchows Archiv B**, v. 21, n. 1, p. 133–145, 1976. Disponível em: <<https://link.springer.com/article/10.1007/BF02899150>>. Acesso em: 9 jul. 2019.

GALKOWSKA, H. et al. Neurogenic Factors in the Impaired Healing of Diabetic Foot Ulcers. **Journal of Surgical Research**, v. 134, n. 2, p. 252–258, ago. 2006. Disponível em: <<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/16580687>>. Acesso em: 9 jul. 2019.

GAO, Y. et al. Arginine-chitosan/DNA self-assemble nanoparticles for gene delivery: In vitro characteristics and transfection efficiency. **International Journal of Pharmaceutics**, v. 359, n. 1–2, p. 241–246, 9 jul. 2008. Disponível em: <<https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0378517308002342>>. Acesso em: 14 jan. 2019.

GOH, S.-Y.; COOPER, M. E. The Role of Advanced Glycation End Products in Progression and Complications of Diabetes. **The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism**, v. 93, n. 4, p. 1143–1152, 1 abr. 2008. Disponível em: <<https://academic.oup.com/jcem/article-lookup/doi/10.1210/jc.2007-1817>>. Acesso em: 9 jul. 2019.

GOVERMAN, J. et al. Adult Contractures in Burn Injury. **Journal of Burn Care & Research**, v. 38, n. 1, p. e328–e336, 1 jan. 2017. Disponível em: <<https://academic.oup.com/jbcr/article/38/1/e328-e336/4568945>>. Acesso em: 10 jul. 2019.

GOY, R. C.; BRITTO, D. de; ASSIS, O. B. G. A review of the antimicrobial activity of chitosan. **Polímeros**, v. 19, n. 3, p. 241–247, 2009. Disponível em: <http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0104-14282009000300013&lng=en&tlng=en>. Acesso em: 14 jan. 2019.

GRATIERI, T. et al. A poloxamer/chitosan in situ forming gel with prolonged retention time for ocular delivery. **European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics**, v. 75, n. 2, p. 186–193, 1 jun. 2010. Disponível em:

<<https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S093964111000041X>>.

Acesso em: 14 jan. 2019.

GRATIERI, T. et al. Enhancing and sustaining the topical ocular delivery of fluconazole using chitosan solution and poloxamer/chitosan in situ forming gel.

European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics, v. 79, n. 2, p. 320–327, 1 out. 2011. Disponível em:

<<https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0939641111001664>>.

Acesso em: 14 jan. 2019.

GUO, S.; DIPIETRO, L. A. Factors Affecting Wound Healing. **Journal of Dental Research**, v. 89, n. 3, p. 219–229, 5 mar. 2010. Disponível em:

<<http://journals.sagepub.com/doi/10.1177/0022034509359125>>. Acesso em: 8 jul. 2019.

GURTNER, G. C. et al. Wound repair and regeneration. **Nature**, v. 453, n. 7193, p. 314–321, 15 maio 2008. Disponível em:

<<http://www.nature.com/doi/10.1038/nature07039>>. Acesso em: 14 jan. 2019.

HASANOVIC, A. et al. Chitosan-tripolyphosphate nanoparticles as a possible skin drug delivery system for aciclovir with enhanced stability. **Journal of Pharmacy and Pharmacology**, v. 61, n. 12, p. 1609–1616, 1 dez. 2009. Disponível em:

<<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/19958582>>. Acesso em: 10 jul. 2019.

HUBER, L. A. et al. Topical Skin Cancer Therapy Using Doxorubicin-Loaded Cationic Lipid Nanoparticles and Iontophoresis. **Journal of Biomedical Nanotechnology**, v. 11, n. 11, p. 1975–1988, 1 out. 2015. Disponível em:

<<http://openurl.ingenta.com/content/xref?genre=article&issn=1550-7033&volume=11&issue=11&spage=1975>>. Acesso em: 10 jul. 2019.

IBGE, I. B. de G. e E. **Número de idosos cresce 18% em 5 anos e ultrapassa 30 milhões em 2017**. Disponível em: <<https://agenciadenoticias.ibge.gov.br/agencia-noticias/2012-agencia-de-noticias/noticias/20980-numero-de-idosos-cresce-18-em-5-anos-e-ultrapassa-30-milhoes-em-2017>>. Acesso em: 31 jan. 2019.

IDF, I. D. F. **IDF Diabetes Atlas**. 8th. ed. [s.l.: s.n.]

INTERNATIONAL CONFERENCE ON HARMONISATION (ICH). **Validation of Analytical Procedures: Text and Methodology Q2(R1)**. [s.l.: s.n.]. Disponível em:

<https://www.ich.org/fileadmin/Public_Web_Site/ICH_Products/Guidelines/Quality/Q2_R1/Step4/Q2_R1__Guideline.pdf>. Acesso em: 12 jul. 2019.

JAIN, A. et al. Fabrication, characterization and cytotoxicity studies of ionically cross-linked docetaxel loaded chitosan nanoparticles. **Carbohydrate Polymers**, v. 137, p. 65–74, 10 fev. 2016. Disponível em:

<<https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0144861715009923>>. Acesso em: 11 jul. 2019.

JANES, K. A. et al. Chitosan nanoparticles as delivery systems for doxorubicin.

Journal of Controlled Release, v. 73, n. 2–3, p. 255–267, 15 jun. 2001. Disponível em: <<https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0168365901002942>>.

Acesso em: 11 jul. 2019.

JORGE, A. G. et al. Aspirin prevents diabetic oxidative changes in rat lacrimal gland structure and function. **Endocrine**, v. 35, n. 2, p. 189–197, 4 abr. 2009. Disponível em: <<http://link.springer.com/10.1007/s12020-009-9151-9>>. Acesso em: 14 jan.

2019.

JYOTHI, N.; PASHA, S. Development and Validation of a New Rp-Hplc Method For Simultaneous Estimation of N-Acetylcysteine and L – Arginine in Combined Dosage form. **Oriental Journal of Chemistry**, v. 30, n. 3, p. 1371–1378, 26 set. 2014.

Disponível em: <<http://www.orientjchem.org/vol30no3/development-and-validation-of-a-new-rp-hplc-method-for-simultaneous-estimation-of-n-acetylcysteine-and-l-arginine-in-combined-dosage-form/>>. Acesso em: 14 jan. 2019.

KARRI, V. V. S. R. et al. Curcumin loaded chitosan nanoparticles impregnated into collagen-alginate scaffolds for diabetic wound healing. **International Journal of Biological Macromolecules**, v. 93, p. 1519–1529, 1 dez. 2016. Disponível em:

<<https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0141813016304494>>. Acesso em: 11 jul. 2019.

KATAS, H.; ALPAR, H. O. Development and characterisation of chitosan nanoparticles for siRNA delivery. **Journal of Controlled Release**, v. 115, n. 2, p. 216–225, 10 out. 2006. Disponível em:

<<https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0168365906003683>>. Acesso em: 11 jul. 2019.

KRISCHAK, G. D. et al. The effects of non-steroidal anti-inflammatory drug application on incisional wound healing in rats. **Journal of Wound Care**, v. 16, n. 2, p. 76–78, fev. 2007. Disponível em:

<<http://www.magonlinelibrary.com/doi/10.12968/jowc.2007.16.2.27001>>. Acesso em:

10 jul. 2019.

KUMARI, A.; YADAV, S. K.; YADAV, S. C. Biodegradable polymeric nanoparticles based drug delivery systems. **Colloids and Surfaces B: Biointerfaces**, v. 75, n. 1, p. 1–18, 1 jan. 2010. Disponível em:

<<https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0927776509004111>>. Acesso em: 14 jan. 2019.

LANDÉN, N. X.; LI, D.; STÅHLE, M. Transition from inflammation to proliferation: a critical step during wound healing. **Cellular and Molecular Life Sciences**, v. 73, n. 20, p. 3861–3885, 14 out. 2016. Disponível em:

<<http://link.springer.com/10.1007/s00018-016-2268-0>>. Acesso em: 24 jan. 2019.

LEHR, C.-M. et al. In vitro evaluation of mucoadhesive properties of chitosan and some other natural polymers. **International Journal of Pharmaceutics**, v. 78, n. 1–3, p. 43–48, 1 jan. 1992. Disponível em:

<<https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/0378517392903534>>. Acesso em: 14 jan. 2019.

LERCO, M. M. et al. Caracterização de um modelo experimental de Diabetes Mellitus, induzido pela aloxana em ratos. Estudo clínico e laboratorial. **Acta Cirúrgica Brasileira**, v. 18, n. 2, p. 132–142, 2003. Disponível em:

<<http://www.scielo.br/pdf/acb/v18n2/15197.pdf>>. Acesso em: 12 jul. 2019.

LEVENSON, S. M. et al. The Healing of Rat Skin Wounds. **Annals of Surgery**, v. 161, n. 2, p. 293–308, fev. 1965. Disponível em:

<<https://insights.ovid.com/crossref?an=00000658-196502000-00019>>. Acesso em: 14 jan. 2019.

LI, J.; CHEN, J.; KIRSNER, R. Pathophysiology of acute wound healing. **Clinics in Dermatology**, v. 25, n. 1, p. 9–18, 1 jan. 2007. Disponível em:

<<https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0738081X06001386>>. Acesso em: 28 jan. 2019.

LIU, W. G. et al. A chitosan-arginine conjugate as a novel anticoagulation biomaterial. **Journal of Materials Science: Materials in Medicine**, v. 15, n. 11, p. 1199–1203, nov. 2004. Disponível em: <<http://link.springer.com/10.1007/s10856-004-5672-1>>. Acesso em: 14 jan. 2019.

LIU, Z. et al. Effects of chitosan molecular weight and degree of deacetylation on the properties of gelatine-based films. **Food Hydrocolloids**, v. 26, n. 1, p. 311–317, 1

jan. 2012. Disponível em:

<<https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0268005X11001822>>. Acesso em: 12 jul. 2019.

LOBMANN, R.; SCHULTZ, G.; LEHNERT, H. Proteases and the diabetic foot syndrome: mechanisms and therapeutic implications. **Diabetes care**, v. 28, n. 2, p. 461–71, 1 fev. 2005. Disponível em:

<<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/15677818>>. Acesso em: 14 jan. 2019.

LOVELL, C. R. et al. Type I and III collagen content and fibre distribution in normal human skin during ageing. **British Journal of Dermatology**, v. 117, n. 4, p. 419–428, out. 1987. Disponível em: <<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/3676091>>. Acesso em: 9 jul. 2019.

LUENGO, J. et al. Influence of Nanoencapsulation on Human Skin Transport of Flufenamic Acid. **Skin Pharmacology and Physiology**, v. 19, n. 4, p. 190–197, 2006. Disponível em: <<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/16679821>>. Acesso em: 10 jul. 2019.

LV, H.-X. et al. A Biomimetic Chitosan Derivates: Preparation, Characterization and Transdermal Enhancement Studies of N-Arginine Chitosan. **Molecules**, v. 16, n. 8, p. 6778–6790, 9 ago. 2011. Disponível em: <<http://www.mdpi.com/1420-3049/16/8/6778>>. Acesso em: 14 jan. 2019.

MANSOURI, S. et al. Chitosan-DNA nanoparticles as non-viral vectors in gene therapy: strategies to improve transfection efficacy. **European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics**, v. 57, n. 1, p. 1–8, 1 jan. 2004. Disponível em: <<https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0939641103001553>>. Acesso em: 14 jan. 2019.

MARCIELLO, M. et al. Freeze-dried cylinders carrying chitosan nanoparticles for vaginal peptide delivery. **Carbohydrate Polymers**, v. 170, p. 43–51, 15 ago. 2017. Disponível em:

<<https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0144861717304472>>. Acesso em: 14 jan. 2019.

MARTELLI, A. et al. Casearia sylvestris Improved Cutaneous Burn Repair in Diabetic Rats. **Journal of Pharmacy and Pharmacology**, v. 6, p. 551–562, 2018. Disponível em:

<<https://davidpublisher.org/Public/uploads/Contribute/5b10aa32e948b.pdf>>. Acesso

em: 6 jul. 2019.

MILLS, C. D. M1 and M2 Macrophages: Oracles of Health and Disease. **Critical reviews in immunology**, v. 32, n. 6, p. 463–88, 2012. Disponível em:

<<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/23428224>>. Acesso em: 9 jul. 2019.

MITRA, S. et al. Tumour targeted delivery of encapsulated dextran–doxorubicin conjugate using chitosan nanoparticles as carrier. **Journal of Controlled Release**, v. 74, n. 1–3, p. 317–323, 6 jul. 2001. Disponível em:

<<https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S016836590100342X>>. Acesso em: 14 jan. 2019.

MOHANRAJ, V. J.; CHEN, Y. Nanoparticles - A review. **Tropical Journal of Pharmaceutical Research**, v. 5, n. 1, p. 561–573, 31 jul. 2007. Disponível em:

<<http://www.ajol.info/index.php/tjpr/article/view/14634>>. Acesso em: 10 jul. 2019.

MORRIS, V. B.; SHARMA, C. P. Folate mediated in vitro targeting of depolymerised trimethylated chitosan having arginine functionality. **Journal of Colloid and Interface Science**, v. 348, n. 2, p. 360–368, 15 ago. 2010. Disponível em:

<<https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0021979710005084>>. Acesso em: 14 jan. 2019.

MOSMANN, T. **Rapid Colorimetric Assay for Cellular Growth and Survival: Application to Proliferation and Cytotoxicity Assays** **Journal of Immunological Methods**. [s.l.: s.n.]. Disponível em:

<<http://citeseerx.ist.psu.edu/viewdoc/download?doi=10.1.1.458.9709&rep=rep1&type=pdf>>. Acesso em: 3 jul. 2019.

NASSEF, H. M. et al. Uptake of Tyrosine Amino Acid on Nano-Graphene Oxide. **Materials (Basel, Switzerland)**, v. 11, n. 1, 4 jan. 2018. Disponível em:

<<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/29300306>>. Acesso em: 10 jul. 2019.

NEVES, A. L. de P. **Preparação e caracterização de nanopartículas de quitosana incorporadas com zinco com potencial atividade cicatrizante e antimicrobiana**. 2013. Universidade Federal de Santa Catarina, 2013.

NOIRI, E. et al. Nitric oxide is necessary for a switch from stationary to locomoting phenotype in epithelial cells. **American Journal of Physiology-Cell Physiology**, v. 270, n. 3, p. C794–C802, mar. 1996. Disponível em:

<<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/8638659>>. Acesso em: 10 jul. 2019.

OGAWA, R. Keloid and Hypertrophic Scars Are the Result of Chronic Inflammation

in the Reticular Dermis. **International Journal of Molecular Sciences**, v. 18, n. 3, p. 606, 10 mar. 2017. Disponível em:

<<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/28287424>>. Acesso em: 10 jul. 2019.

OGUNJIMI, A. T. et al. Hydrophilic polymeric nanoparticles prepared from Delonix galactomannan with low cytotoxicity for ocular drug delivery. **Carbohydrate Polymers**, v. 157, p. 1065–1075, 10 fev. 2017. Disponível em:

<<https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0144861716312474>>. Acesso em: 14 jan. 2019.

OLSSON, M. et al. The humanistic and economic burden of chronic wounds : A systematic review. v. 27, n. 1, p. 114–125, 2019. Disponível em:

<<https://onlinelibrary.wiley.com/doi/full/10.1111/wrr.12683>>.

PALMU, R. et al. Return to work six months after burn: A prospective study at the Helsinki Burn Center. **Burns**, v. 41, n. 6, p. 1152–1160, 1 set. 2015. Disponível em:

<<https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0305417915001825>>.

Acesso em: 10 jul. 2019.

PANWAR, R. et al. Efficacy of ferulic acid encapsulated chitosan nanoparticles against *Candida albicans* biofilm. **Microbial Pathogenesis**, v. 95, p. 21–31, 1 jun. 2016. Disponível em:

<<https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0882401016300432>>. Acesso em: 11 jul. 2019.

PENG, H. B.; SPIECKER, M.; LIAO, J. K. Inducible nitric oxide: an autoregulatory feedback inhibitor of vascular inflammation. **Journal of immunology (Baltimore, Md. : 1950)**, v. 161, n. 4, p. 1970–6, 15 ago. 1998. Disponível em:

<<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/9712068>>. Acesso em: 10 jul. 2019.

PROKOPOWICZ, Z. et al. Neutrophil Myeloperoxidase: Soldier and Statesman.

Archivum Immunologiae et Therapiae Experimentalis, v. 60, n. 1, p. 43–54, 6 fev. 2012. Disponível em: <<http://link.springer.com/10.1007/s00005-011-0156-8>>.

Acesso em: 5 jul. 2019.

QI, L. et al. Preparation and antibacterial activity of chitosan nanoparticles.

Carbohydrate Research, v. 339, n. 16, p. 2693–2700, 15 nov. 2004. Disponível em:

<<https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S000862150400388X>>.

Acesso em: 14 jan. 2019.

RAJENDRAN, N. K. et al. A review on nanoparticle based treatment for wound

healing. **Journal of Drug Delivery Science and Technology**, v. 44, p. 421–430, 1 abr. 2018. Disponível em:

<<https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S1773224717308523>>. Acesso em: 8 jul. 2019.

REJINOLD, N. S. et al. Saponin-loaded chitosan nanoparticles and their cytotoxicity to cancer cell lines in vitro. **Carbohydrate Polymers**, v. 84, n. 1, p. 407–416, 11 fev. 2011. Disponível em:

<<https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0144861710009549>>. Acesso em: 12 jul. 2019.

RIBANI, M. et al. **VALIDAÇÃO EM MÉTODOS CROMATOGRÁFICOS E ELETROFORÉTICOS** *Quim. Nova*. [s.l: s.n.]. Disponível em:

<<http://www.scielo.br/pdf/%0D/qn/v27n5/a17v27n5.pdf>>. Acesso em: 14 jan. 2019.

RICHARME, G. et al. Parkinsonism-associated protein DJ-1/Park7 is a major protein deglycase that repairs methylglyoxal- and glyoxal-glycated cysteine, arginine, and lysine residues. **The Journal of biological chemistry**, v. 290, n. 3, p. 1885–97, 16 jan. 2015. Disponível em: <<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/25416785>>. Acesso em: 2 jul. 2019.

ROBSON, M. C. WOUND INFECTION: A Failure of Wound Healing Caused by an Imbalance of Bacteria. **Surgical Clinics of North America**, v. 77, n. 3, p. 637–650, 1 jun. 1997. Disponível em:

<<https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0039610905705727>>. Acesso em: 10 jul. 2019.

RUIZ MATUTE, A. I. et al. Synthesis, characterization and functional properties of galactosylated derivatives of chitosan through amide formation. **Food Hydrocolloids**, v. 33, n. 2, p. 245–255, 1 dez. 2013. Disponível em:

<<https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0268005X13001008>>. Acesso em: 14 jan. 2019.

SARMENTO, B. et al. Alginate/Chitosan Nanoparticles are Effective for Oral Insulin Delivery. **Pharmaceutical Research**, v. 24, n. 12, p. 2198–2206, 5 nov. 2007.

Disponível em: <<http://link.springer.com/10.1007/s11095-007-9367-4>>. Acesso em: 14 jan. 2019.

SCHÄFFER, M. R. et al. Nitric oxide, an autocrine regulator of wound fibroblast synthetic function. **Journal of immunology (Baltimore, Md. : 1950)**, v. 158, n. 5, p.

2375–81, 1 mar. 1997. Disponível em:

<<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/9036987>>. Acesso em: 10 jul. 2019.

SCHULTZ, G. S. et al. Wound bed preparation: a systematic approach to wound management. **Wound Repair and Regeneration**, v. 11, n. s1, p. S1–S28, mar. 2003. Disponível em: <<http://doi.wiley.com/10.1046/j.1524-475X.11.s2.1.x>>. Acesso em: 10 jul. 2019.

SERRA, M. B. et al. From Inflammation to Current and Alternative Therapies Involved in Wound Healing. **International Journal of Inflammation**, p. 17, 2017. Disponível em: <<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/28811953>>. Acesso em: 16 fev. 2019.

SEZER, A. D. et al. Chitosan film containing fucoidan as a wound dressing for dermal burn healing: Preparation and in vitro/in vivo evaluation. **AAPS PharmSciTech**, v. 8, n. 2, p. E94–E101, jun. 2007. Disponível em:

<<http://link.springer.com/10.1208/pt0802039>>. Acesso em: 14 jan. 2019.

SHAVE, E.; VIGH, G. Preparative-scale, recirculating, pH-biased binary isoelectric trapping separations. **ELECTROPHORESIS**, v. 25, n. 2, p. 381–387, 1 jan. 2004. Disponível em: <<http://doi.wiley.com/10.1002/elps.200305752>>. Acesso em: 14 jan. 2019.

SHEIHET, L. et al. Tyrosine-derived nanospheres for enhanced topical skin penetration. **International Journal of Pharmaceutics**, v. 350, n. 1–2, p. 312–319, 28 fev. 2008. Disponível em: <<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/17897801>>. Acesso em: 10 jul. 2019.

SHI, H. P. et al. Supplemental L-arginine enhances wound healing in diabetic rats. **Wound Repair and Regeneration**, v. 11, n. 3, p. 198–203, 1 maio 2003. Disponível em: <<http://doi.wiley.com/10.1046/j.1524-475X.2003.11308.x>>. Acesso em: 14 jan. 2019.

SHUKLA, D.; TROUT, B. L. Interaction of Arginine with Proteins and the Mechanism by Which It Inhibits Aggregation. **The Journal of Physical Chemistry B**, v. 114, n. 42, p. 13426–13438, 28 out. 2010. Disponível em:

<<http://pubs.acs.org/doi/abs/10.1021/jp108399g>>. Acesso em: 14 jan. 2019.

SHUKLA, D.; TROUT, B. L. Preferential Interaction Coefficients of Proteins in Aqueous Arginine Solutions and Their Molecular Origins. **The Journal of Physical Chemistry B**, v. 115, n. 5, p. 1243–1253, 10 fev. 2011. Disponível em:

<<http://pubs.acs.org/doi/abs/10.1021/jp108586b>>. Acesso em: 14 jan. 2019.

SIDDIQUI, A. et al. Differential effects of oxygen on human dermal fibroblasts: acute versus chronic hypoxia. **Wound Repair and Regeneration**, v. 4, n. 2, p. 211–218, abr. 1996. Disponível em: <<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/17177815>>. Acesso em: 9 jul. 2019.

SILVA, A. M. de O. e. **Efeito dos compostos fenólicos presentes no alecrim (Rosmarinus officinalis L.) sobre as enzimas antioxidantes e os parâmetros bioquímicos do sangue de ratos diabéticos induzidos por estreptozotocina.** 2008. Biblioteca Digital de Teses e Dissertações da Universidade de São Paulo, São Paulo, 2008. Disponível em: <<http://www.teses.usp.br/teses/disponiveis/9/9132/tde-26092017-161242/>>. Acesso em: 12 jul. 2019.

SINGER, A. J.; CLARK, R. A. F. Cutaneous Wound Healing. **New England Journal of Medicine**, v. 341, n. 10, p. 738–746, 2 set. 1999. Disponível em: <<http://www.nejm.org/doi/10.1056/NEJM199909023411006>>. Acesso em: 14 jan. 2019.

SMITH, R. E.; MACQUARRIE, R. A sensitive fluorometric method for the determination of arginine using 9,10-phenanthrenequinone. **Analytical Biochemistry**, v. 90, n. 1, p. 246–255, 1 out. 1978. Disponível em: <<https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/0003269778900295>>. Acesso em: 2 jul. 2019.

SOPPIMATH, K. S. et al. Biodegradable polymeric nanoparticles as drug delivery devices. **Journal of Controlled Release**, v. 70, n. 1–2, p. 1–20, 29 jan. 2001. Disponível em: <<https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0168365900003394>>. Acesso em: 11 jul. 2019.

SORG, H. et al. **Skin Wound Healing: An Update on the Current Knowledge and Concepts** *European Surgical Research*, 2017. .

STEED, D. L. Wound-healing trajectories. **The Surgical clinics of North America**, v. 83, n. 3, p. 547–55, vi–vii, jun. 2003. Disponível em: <<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/12822725>>. Acesso em: 14 jan. 2019.

SUDARSHAN, N. R.; HOOVER, D. G.; KNORR, D. Antibacterial action of chitosan. **Food Biotechnology**, v. 6, n. 3, p. 257–272, jan. 1992. Disponível em: <<http://www.tandfonline.com/doi/abs/10.1080/08905439209549838>>. Acesso em: 14

jan. 2019.

SWIFT, M. E. et al. Age-Related Alterations in the Inflammatory Response to Dermal Injury. **Journal of Investigative Dermatology**, v. 117, n. 5, p. 1027–1035, nov. 2001. Disponível em: <<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/11710909>>. Acesso em: 9 jul. 2019.

TANG, H. et al. Antibacterial action of a novel functionalized chitosan-arginine against Gram-negative bacteria. **Acta Biomaterialia**, v. 6, n. 7, p. 2562–2571, 1 jul. 2010. Disponível em: <<https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S1742706110000061>>. Acesso em: 14 jan. 2019.

TAVEIRA, S. F. et al. Effect of iontophoresis on topical delivery of doxorubicin-loaded solid lipid nanoparticles. **Journal of biomedical nanotechnology**, v. 10, n. 7, p. 1382–90, jul. 2014. Disponível em: <<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/24804558>>. Acesso em: 10 jul. 2019.

TIYABOONCHAI, W. **Chitosan Nanoparticles : A Promising System for Drug Delivery** Naresuan University Journal. [s.l: s.n.]. Disponível em: <<http://citeseerx.ist.psu.edu/viewdoc/download?doi=10.1.1.460.1550&rep=rep1&type=pdf>>. Acesso em: 11 jul. 2019.

TOMODA, K. et al. Enhanced transdermal permeability of estradiol using combination of PLGA nanoparticles system and iontophoresis. **Colloids and Surfaces B: Biointerfaces**, v. 97, p. 84–89, 1 set. 2012. Disponível em: <<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/22609586>>. Acesso em: 10 jul. 2019.

UNITED STATES FOOD AND DRUG ADMINISTRATION (US-FDA). **Analytical Procedures and Methods Validation for Drugs and Biologics - Guidance for Industry**. [s.l: s.n.]. Disponível em: <<http://www.fda.gov/Drugs/GuidanceComplianceRegulatoryInformation/Guidances/default.htm>> or <<http://www.fda.gov/BiologicsBloodVaccines/GuidanceComplianceRegulatoryInformation/Guidances/default.htm>>. Acesso em: 12 jul. 2019.

VAREDI, M. et al. Local Administration of L-Arginine Accelerates Wound Closure. **Mashhad University of Medical Sciences**, v. 12, n. 3, p. 173–178, 1 jul. 2009. Disponível em: <http://ijbms.mums.ac.ir/article_5179.html>. Acesso em: 23 jun. 2019.

VILA, A. et al. Design of biodegradable particles for protein delivery. **Journal of**

Controlled Release, v. 78, n. 1–3, p. 15–24, 17 jan. 2002. Disponível em: <<https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0168365901004862>>. Acesso em: 10 jul. 2019.

WANG, J. J. et al. Recent advances of chitosan nanoparticles as drug carriers. **International journal of nanomedicine**, v. 6, p. 765–74, 2011. Disponível em: <<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/21589644>>. Acesso em: 14 jan. 2019.

WANG, P.-H. et al. Wound healing. **Journal of the Chinese Medical Association**, v. 81, n. 2, p. 94–101, 1 fev. 2018. Disponível em: <<https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S1726490117303088>>. Acesso em: 28 jan. 2019.

WEDMORE, I. et al. A Special Report on the Chitosan-based Hemostatic Dressing: Experience in Current Combat Operations. **The Journal of Trauma: Injury, Infection, and Critical Care**, v. 60, n. 3, p. 655–658, mar. 2006. Disponível em: <<https://insights.ovid.com/crossref?an=00005373-200603000-00030>>. Acesso em: 22 jun. 2019.

WITTE, M. B. et al. L-Arginine supplementation enhances diabetic wound healing: involvement of the nitric oxide synthase and arginase pathways. **Metabolism: clinical and experimental**, v. 51, n. 10, p. 1269–73, 1 out. 2002. Disponível em: <<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/12370845>>. Acesso em: 14 jan. 2019.

WITTE, M. B.; BARBUL, A. General principles of wound healing. **The Surgical clinics of North America**, v. 77, n. 3, p. 509–28, jun. 1997. Disponível em: <<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/9194878>>. Acesso em: 12 jul. 2019.

WITTE, M. B.; BARBUL, A. Arginine physiology and its implication for wound healing. **Wound Repair and Regeneration**, v. 11, n. 6, p. 419–23, 2003. Disponível em: <<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/14617280>>. Acesso em: 14 jan. 2019.

XIAO, B. et al. Preparation and characterization of antimicrobial chitosan-N-arginine with different degrees of substitution. **Carbohydrate Polymers**, v. 83, n. 1, p. 144–150, 1 jan. 2011. Disponível em: <<https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0144861710005758>>. Acesso em: 14 jan. 2019.

ZHANG, H. et al. Arginine conjugation affects the endocytic pathways of chitosan/DNA nanoparticles. **Journal of Biomedical Materials Research Part A**, v. 98A, n. 2, p. 296–302, 1 ago. 2011. Disponível em:

<<http://doi.wiley.com/10.1002/jbm.a.33115>>. Acesso em: 14 jan. 2019.

ZHANG, M. et al. The characterization of high-fat diet and multiple low-dose streptozotocin induced type 2 diabetes rat model. **Experimental diabetes research**, v. 2008, p. 704045, 2008. Disponível em:

<<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/19132099>>. Acesso em: 12 jul. 2019.

ZHANG, T. et al. Dual-targeted hybrid nanoparticles of synergistic drugs for treating lung metastases of triple negative breast cancer in mice. **Acta Pharmacologica Sinica**, v. 38, n. 6, p. 835–847, 20 jun. 2017. Disponível em:

<<http://www.nature.com/articles/aps2016166>>. Acesso em: 2 jul. 2019.

ZHU, D. et al. Enhancement of transfection efficiency for HeLa cells via incorporating arginine moiety into chitosan. **Chinese Science Bulletin**, v. 52, n. 23, p. 3207–3215, dez. 2007. Disponível em: <<http://link.springer.com/10.1007/s11434-007-0455-y>>.

Acesso em: 14 jan. 2019.