



**UNIVERSIDADE ESTADUAL DA PARAÍBA**  
**PRÓ-REITORIA DE PÓS-GRADUAÇÃO E PESQUISA**  
**PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS FARMACÊUTICAS**

**AMARO CÉSAR LIMA DE ASSIS**

**FILMES DE ACETATO DE CELULOSE CONTENDO DERIVADO N-  
ACILIDRAZÔNICO PARA TRATAMENTO DE LESÕES CUTÂNEAS**

**CAMPINA GRANDE-PB**

**2020**

**AMARO CÉSAR LIMA DE ASSIS**

**FILMES DE ACETATO DE CELULOSE CONTENDO DERIVADO N-  
ACILIDRAZÔNICO PARA TRATAMENTO DE LESÕES CUTÂNEAS**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós- Graduação em Ciências Farmacêuticas da Universidade Estadual da Paraíba – UEPB, como requisito para obtenção do título de Mestre em Ciências Farmacêuticas.

**Orientador: Prof. Dr. Bolívar Ponciano G. de L. Damasceno**

**CAMPINA GRANDE–PB**

**2020**

É expressamente proibido a comercialização deste documento, tanto na forma impressa como eletrônica. Sua reprodução total ou parcial é permitida exclusivamente para fins acadêmicos e científicos, desde que na reprodução figure a identificação do autor, título, instituição e ano do trabalho.

A848f Assis, Amaro César Lima de.  
Filmes de acetato de celulose contendo derivado N-acilidrazônico para tratamento de lesões cutâneas [manuscrito] / Amaro César Lima de Assis. - 2020.  
101 p.  
Digitado.  
Dissertação (Mestrado em Ciências Farmacêuticas) - Universidade Estadual da Paraíba, Centro de Ciências Biológicas e da Saúde, 2021.  
"Orientação : Prof. Dr. Bolívar Ponciano Goulart de Lima Damasceno, Departamento de Farmácia - CCBS."  
1. Palma forrageira. 2. Acetato de celulose. 3. Filmes poliméricos. 4. Anti-inflamatório. I. Título  
21. ed. CDD 615.321

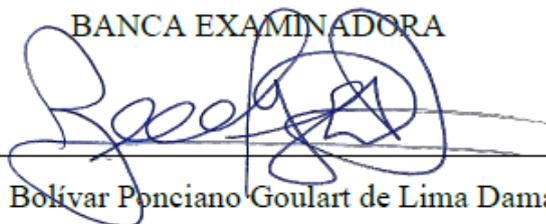
AMARO CÉSAR LIMA DE ASSIS

**FILMES DE ACETATO DE CELULOSE CONTENDO DERIVADO N-  
ACILIDRAZÔNICO PARA TRATAMENTO DE LESÕES CUTÂNEAS**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós- Graduação em Ciências Farmacêuticas da Universidade Estadual da Paraíba – UEPB, como requisito para obtenção do título de Mestre em Ciências Farmacêuticas.

Aprovada em: 21/12/2020.

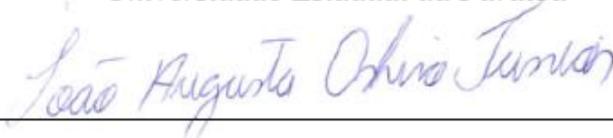
BANCA EXAMINADORA



---

Prof. Dr. Bolívar Ponciano Goulart de Lima Damasceno

*Universidade Estadual da Paraíba*



---

Prof. Dr. João Augusto Oshiro Júnior

*Universidade Estadual da Paraíba*



---

Prof. Dr. Henrique Rodrigues Marcelino

*Universidade Federal da Bahia*

## AGRADECIMENTOS

Agradeço aos meus pais, CÉSAR ROBERTO COSTA DE ASSIS E MARIA LIMA DE ASSIS, por todo o amor, toda a fé e esperança depositadas em mim, todas as palavras de incentivo, toda a dedicação e esforço para me tornasse o que sou hoje. É com muito orgulho que posso olhar para trás e ver como os melhores valores e princípios do caráter humano me foram repassados de forma exemplar, tudo que sou devo a vocês. Amo muito vocês!

Agradeço ao meu irmão, JUVÊNCIO CÉSAR LIMA DE ASSIS, que como irmão mais velho sempre foi uma referência pra mim, obrigado por tudo. Te amo!

Agradeço a toda minha família, por toda a força e pela torcida por mim, sou muito grato por ter uma família grande, unida e integra.

Agradeço ao meu orientador, Prof. Dr. Bolívar P. G de L. Damasceno, por todos os ensinamentos, oportunidades concedidas e pela amizade. Muito obrigado por tudo, professor!

Agradeço a todos os amigos do Laboratório de Desenvolvimento e Caracterização de Produtos Farmacêuticos (LDCPF). Agradeço a todos os ICs e mestrados. Em especial Larissa Pereira, Joandra Maísa, Demis Melo, Davidson Wanderley, Prof. Dr João Oshiro, e as alunas de iniciação científica Beatriz Patrício, Livia Carvalho e Milena. Todos foram fundamentais na construção desse projeto!

Agradeço a todos os meus amigos de apartamento, obrigado pela força, amizade e por todos os momentos de descontração.

Agradeço a todos os meus amigos de Icó-CE, obrigado pela força, amizade e por todos os momentos de descontração.

Agradeço o CERTBIO (UFMG/UEPB), CETENE, UFRN e UFPE por viabilizarem as análises nesta pesquisa.

Agradeço ao Prof. Dr. Henrique Rodrigues Marcelino por aceitar e contribuir para o enriquecimento deste trabalho.

Por último, agradeço a todos os professores e funcionários da UEPB, aqueles que participaram direta e indiretamente desta jornada. Obrigado pela atenção, dedicação, pelo conhecimento compartilhado e pela nobre tarefa de formar profissionais.

## RESUMO

Diferentes matérias primas de origem vegetal têm sido avaliadas como fontes alternativas de celulose. No entanto, poucos estudos exploram o potencial de culturas regionais típicas, como as forrageiras do semiárido. O objetivo deste estudo foi utilizar a palma forrageira (*Nopalea cochenillifera* (L.) Salm Dyck) como matéria prima para extração de celulose, utilizando-a para produção e caracterização de um de seus derivados, o acetato de celulose (ACT). Características como biodegradabilidade, baixa toxicidade e biocompatibilidade fazem com que este polímero seja explorado no campo farmacêutico. Desta forma, este trabalho também buscou viabilizar o emprego deste polímero para o desenvolvimento de filmes poliméricos contendo um derivado N-acilidrazônico chamado de JR19, com promissora atividade anti-inflamatória para aplicação em lesões cutâneas. Para isso foi utilizado o ACT extraído da palma forrageira e o ACT da Sigma-Aldrich® para um estudo comparativo. O método de extração fundamenta-se na oxidação das ligninas que expõe as amostras a diferentes meios reacionais, após o isolamento, a celulose foi submetida à reação de acetilação para a substituição de grupos hidroxila da celulose, por grupamentos acetila característicos do ACT. O ACT obtido foi caracterizado e identificado pelo grau de substituição, por espectroscopia de infravermelho com transformada de Fourier (FTIR), difração de raios-X (DRX) e microscopia óptica. Os filmes poliméricos foram desenvolvidos com e sem a incorporação da JR19, para isso, utilizou-se o método de evaporação de solvente que atestou rapidez e eficácia na formação das membranas. Técnicas de caracterização termoanalíticas, espectroscópicas, avaliação das propriedades mecânicas e aspectos morfológicos foram realizados. Os resultados obtidos caracterizaram o ACT como derivado predominantemente tri substituído, corroborando com o FTIR que indicou a presença dos grupamentos acetila no polímero, o DRX demonstrou uma amorfização característica do processo de acetilação da celulose. Até o presente momento a pesquisa não obteve êxito na formação de filmes de ACT adquirido do processo extrativo da palma forrageira, portando, procedeu-se o desenvolvimento e caracterização físico-química dos filmes de ACT da Sigma-Aldrich®. Para os filmes foram utilizados 1,5% do polímero, 10% de glicerol (agente plastificante) e acetona PA com solvente da solução polimérica. Foi desenvolvido um método específico, linear, preciso, exato e robusto para quantificação da JR19. Os ensaios mecânicos demonstraram adequação para aplicação biomédica. As microscopias avaliaram a mudança nos aspectos morfológicos com e sem a adição da JR19, possibilitando a visualizar porosidades nas membranas e os cristais do fármaco incorporados. Os resultados das análises termogravimétricas (TG) e Calorimetria exploratória diferencial (DSC) permitiram uma análise conjunta dos componentes isolados e dos filmes com e sem o fármaco, indicando que não houve interações entre polímero/fármaco. O FTIR expressou os principais grupos funcionais das amostras avaliadas, indicando que houve a incorporação da JR19. O DRX indicou a supressão da cristalinidade do fármaco nos filmes, o que caracteriza a incorporação ou amorfização da JR19. Desta forma, a palma forrageira pode ser utilizada como matéria prima na síntese do acetato de celulose, e substancialmente na obtenção de formulações inovadoras, tendo como vantagem adjacente um baixo custo e valorização da vegetação local. As técnicas utilizadas permitiram caracterizar a formulação de ACT e JR19, mostrando-se promissoras para o desenvolvimento destes filmes/curativos como uma nova proposta de tratamento farmacêutico. A pesquisa ambiciona ainda a avaliação do perfil de liberação e ensaio toxicológico das mesmas.

**Palavras-chave:** Palma forrageira. Acetato de cellulose. anti-inflamatório. Filmes poliméricos.

## ABSTRACT

Different raw materials of plant origin have been evaluated as alternative sources of cellulose. However, few studies explore the potential of typical regional crops such as semiarid forages. The objective of this study was to use forage palm (*Nopalea cochenillifera* (L.) Salm Dyck) as a raw material for cellulose extraction, using it for production and characterization of one of its derivatives, cellulose acetate (ACT). Features such as biodegradability, low toxicity and biocompatibility make this polymer exploited in the pharmaceutical field. Thus, this work also sought to make possible the use of this polymer for the development of polymeric films containing an N-acylhydrazonic derivative called JR19, with promising anti-inflammatory activity for skin lesions and the ACT Sigma-Aldrich® for a comparative study. The extraction method is based on the oxidation of lignins that expose the samples to different reaction media. After isolation, the cellulose was submitted to acetylation reaction to replace hydroxyl groups of cellulose, by acetyl groups characteristic of ACT. The obtained ACT was characterized and identified by the degree of substitution, Fourier Transform Infrared (FTIR), X-ray Diffraction (XRD) and optical microscopy. The polymeric films were developed with and without the incorporation of JR19, for this, we used the solvent evaporation method that attested to the speed and effectiveness in membrane formation. Thermoanalytical, spectroscopic characterization techniques, evaluation of mechanical properties and morphological aspects were performed. The obtained results characterized the ACT as predominantly tri substituted derivative, corroborating with the FTIR that indicated the presence of the acetyl groups in the polymer, the XRD showed a characteristic amorphization of the cellulose acetylation process. To date, research has been unsuccessful in the formation of ACT films acquired from the forage palm extractive process, so the development and physical-chemical characterization of Sigma-Aldrich® ACT films has been carried out. For the films 1.5% of the polymer, 10% glycerol (plasticizer) and acetone PA with solvent of the polymeric solution were used. A specific, linear, precise, accurate and robust method for quantifying JR19 was developed. Mechanical tests have demonstrated suitability for biomedical application. Microscopies evaluated the change in morphological aspects with and without the addition of JR19, making it possible to visualize porosities in the membranes and the incorporated drug crystals. Thermogravimetric (TG) and Differential Exploratory Calorimetry (DSC) results allowed a combined analysis of the isolated components and films with and without the drug, indicating that there were no polymer / drug interactions. The FTIR expressed the main functional groups of the evaluated samples, indicating that JR19 was incorporated. XRD indicated the suppression of drug crystallinity in the films, which characterizes the incorporation or amorphization of JR19. Thus, forage palm can be used as a raw material in the synthesis of cellulose acetate, and substantially in obtaining innovative formulations, having the adjacent advantage of low cost and valorization of local vegetation. The techniques used allowed characterizing the formulation of ACT and JR19, showing promise for the development of these films / dressings as a new pharmaceutical treatment proposal. The research also aims to evaluate the release profile and toxicological assay of them.

**Keywords:** Forage Palm. Cellulose acetate. anti-inflammatory. Polymeric films.

## LISTA DE FIGURAS

<b>Figura 1-</b> Estrutura da pele. ....	15
<b>Figura 2-</b> Representação gráfica da resposta normal de pele a feridas, durante as três fases do processo de cicatrização. ....	18
<b>Figura 3-</b> Fotografia da <i>Nopalea cochenilifera</i> (L.) Salm-Dyck. ....	22
<b>Figura 4-</b> Estrutura da celobiose, unidade constitucional da celulose. ....	23
<b>Figura 5-</b> Obtenção do acetato de celulose por acetilação da celulose. ....	24
<b>Figura 6-</b> Reação geral de formação de uma hidrazona .....	27
<b>Figura 7-</b> Estrutura básica da função <i>N</i> -acilidrazona e seus perfis de bioatividade. ....	29
<b>Figura 8-</b> Síntese de derivados <i>N</i> - acilidrazonas indolicos, utilizando (i) ácido acético (AcOH) e etanol (EtOH) em temperatura ambiente. ....	30
<b>Figura 9-</b> Estrutura química da JR19. ....	31
<b>Figura 10-</b> Etapas do processo de extração a partir da Palma Forrageira; <b>A-</b> Vegetal seco e triturado; <b>B-</b> pó do vegetal livre de extrativos; <b>C-</b> holocelulose; <b>D-</b> celulose. ....	49
<b>Figura 11-</b> Acetato de celulose obtido a partir da celulose da palma forrageira. ....	51
<b>Figura 12-</b> Microscopia óptica do acetato de celulose .....	52
<b>Figura 13-</b> Análise de Infra Vermelho (FTIR) do acetato de celulose com destaque para as principais bandas. ....	53
<b>Figura 14-</b> Difração de Raio- X do acetato de celulose. ....	55
<b>Figura 15-</b> Filmes de acetato de celulose sem e com o fármaco .....	72
<b>Figura 16-</b> Espectro de varredura da JR19 no ( $\lambda$ ) de 1100 a 190, apresentando os picos de absorção. ....	73
<b>Figura 17-</b> Espectro de varredura da JR19, do FJR19 e do FB no ( $\lambda$ ) de 1100 a 190 nm. ....	74
<b>Figura 18-</b> Microscopia óptica dos FB em aumento de 280x (A) e 1.120x (B), e dos FJR19 em aumento de 280x (C) e 1.120x em (D) e cristais da JR19 (E). ....	82
<b>Figura 19-</b> MEV dos FB e FJR19. A - FB (escala de 50 $\mu$ m), B - FJR19 (escala de 50 $\mu$ m), C - FJR19 (escala de 20 $\mu$ m). ....	83
<b>Figura 20-</b> Curvas de DSC das amostras. ....	<b>Erro! Indicador não definido.</b>
<b>Figura 20-</b> Curvas de DSC das amostras ( <b>continuação</b> ). ....	85
<b>Figura 21-</b> Curvas de TG/DTG das amostras .....	87
<b>Figura 22-</b> Espectro de FTIR das amostras. ....	90
<b>Figura 23-</b> Difratoograma das amostras .....	93

## LISTA DE TABELAS

<b>Tabela 1-</b> Propriedades de fluxo e tamanho médio do acetato de celulose. <b>Erro! Indicador não definido.</b>	
<b>Tabela 2-</b> Bandas na região do infravermelho associadas ao acetato de celulose .....	54
<b>Tabela 3-</b> Teste de análise de variância (ANOVA). .....	75
<b>Tabela 4-</b> Resultado analítico para análise da exatidão do método proposto. ....	76
<b>Tabela 5-</b> Resultado analítico da precisão do método proposto. ....	77
<b>Tabela 6-</b> Resultado analítico da robustez do método proposto. ....	77
<b>Tabela 7-</b> Espessura dos filmes de acetato de celulose com e sem a JR19. ....	79
<b>Tabela 8-</b> Resultados de decomposição térmica e eventos calorimétricos das amostras. ....	89
<b>Tabela 9-</b> Principais valores de absorvância associados ao acetato de celulose (ACT). ....	90
<b>Tabela 10-</b> Principais valores de absorvância associados a JR19.....	91

## LISTA DE ABREVIATURAS

ACT	Acetato de celulose
ACT:JR19	Mistura física polímero/ fármaco (1:1) p/p
CERTBIO	Laboratório de Avaliação e Desenvolvimento de Biomateriais do Nordeste
CETENE	Centro de tecnologias estratégicas do Nordeste
DRX	Difratometria de Raios-X
DSC	Calorimetria Exploratória Diferencial
EXO	Exotérmico
FB	Filme de acetato de celulose sem JR19
FJR19	Filme de acetato de celulose com JR19
FTIR	Espectroscopia na região do infravermelho com transformada de Fourier
G <sub>s</sub>	Grau de substituição
LD	Limite de detecção
LDCPF	Laboratório de Desenvolvimento e Caracterização de Produtos Farmacêuticos
LQ	Limite de quantificação
LSVM	Laboratório de Síntese e Vetorização Molecular
MEV	Microscopia eletrônica de varredura
MO	Microscopia ótica
TG/DTG	Termogravimetria e sua derivada
TNF- $\alpha$	Fator de necrose tumoral alfa

## SUMÁRIO

<b>1. INTRODUÇÃO</b> .....	<b>11</b>
<b>2. OBJETIVOS</b> .....	<b>13</b>
2.1 Objetivo Geral.....	13
2.2 Objetivos Específicos .....	13
<b>3. REFERENCIAL TEÓRICO</b> .....	<b>14</b>
3.1 A pele.....	14
3.2 Inflamação e cicatrização fisiológica da pele .....	17
3.3 Palma forrageira ( <i>Nopalea cochenilifera</i> (L.) Salm-Dyck) e derivados celulósicos ....	21
3.4 Acetato de celulose .....	24
3.5 Sistemas Poliméricos para carreamento de fármacos.....	25
3.6 Derivados N-acilidrazônicos .....	26
<b>REFERENCIAL BIBLIOGRÁFICO</b> .....	<b>32</b>
<b>Capítulo I- Extração de celulose da palma forrageira (<i>Nopalea cochenilifera</i> (L.) Salm-Dyck) para síntese e caracterização de acetato de celulose</b> .....	<b>41</b>
<b>1. INTRODUÇÃO</b> .....	<b>41</b>
<b>2. MATERIAL E MÉTODOS</b> .....	<b>43</b>
<b>2.1. Caracterização da palma forrageira <i>Nopalea cochenilifera</i> (L.) Salm-Dyck</b> .....	<b>43</b>
2.1.1 Matéria.....	43
2.1.2 Matéria prima vegetal .....	43
2.1.3 Purificação da palma forrageira.....	43
2.1.4 Obtenção da holocelulose .....	44
2.1.5 Obtenção da celulose .....	44
<b>2.2. Produção e caracterização do acetato de celulose</b> .....	<b>45</b>
2.2.1. Acetilação da celulose da palma forrageira .....	45
2.2.2. Determinação do grau de substituição do acetato de celulose.....	46
<b>2.3. Rendimento do acetato de celulose</b> .....	<b>46</b>
<b>2.4. Microscopia Óptica</b> .....	<b>47</b>
<b>2.5. Tamanho médio</b> .....	<b>47</b>
<b>2.6. Espectroscopia transformada no infravermelho com transformada de Fourier (FTIR) do polímero acetato de celulose</b> .....	<b>47</b>
<b>2.7. Difração de Raio- X (DRX)</b> .....	<b>48</b>
<b>3. RESULTADOS E DISCUSSÃO</b> .....	<b>49</b>
3.1 Processo de Extração a partir da Palma Forrageira ( <i>Nopalea cochenilifera</i> (L.).....	49
3.2 Rendimento do processo de extração.....	50
3.3 Produção e caracterização do acetato de celulose .....	50
3.4 Morfologia .....	51

<b>3.5 Espectroscopia na região do infravermelho com transformada de fourier (FTIR) do polímero acetato de celulose .....</b>	<b>52</b>
<b>3.6 Difração de Raio- X (DRX).....</b>	<b>54</b>
<b>4. CONCLUSÃO.....</b>	<b>56</b>
<b>REFERENCIAL BIBLIOGRÁFICO .....</b>	<b>57</b>
<b>Capitulo II- Caracterização físico-química de filmes de acetato de celulose contendo um derivado n-acilidrazônico.....</b>	<b>62</b>
<b>1.INTRODUÇÃO .....</b>	<b>62</b>
<b>2.MATERIAL E MÉTODOS .....</b>	<b>65</b>
<b>2.1. Material.....</b>	<b>65</b>
<b>2.2. Métodos.....</b>	<b>65</b>
2.2.1 Produção dos filmes de celulose com e sem JR-19 .....	65
2.2.2 Validação do método analítico espectrofotométrico para doseamento da JR19 .....	66
2.2.3 Caracterização físico-química dos constituintes e filmes formados.....	68
<b>3.RESULTADOS E DISCUSSÃO.....</b>	<b>71</b>
<b>3.1 Desenvolvimento dos filmes de acetato de celulose com e sem JR19 .....</b>	<b>71</b>
<b>3.2 Validação do método analítico espectrofotométrico para doseamento da JR19 .....</b>	<b>72</b>
3.2.1 Seletividade .....	73
3.2.2 Linearidade .....	74
3.2.3 Exatidão .....	76
3.3.3 Precisão.....	76
3.2.5 Robustez .....	77
3.2.6 Limite de Detecção (LD) e Limite de Quantificação (LQ) .....	78
<b>3.3 Resistência ao Dobramento.....</b>	<b>78</b>
<b>3.4 Ensaio de Tração.....</b>	<b>78</b>
<b>3.5. Microscopia Óptica (MO) .....</b>	<b>81</b>
<b>3.6. Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV) .....</b>	<b>83</b>
<b>3.7.Análise Térmica por Calorimetria Exploratória Diferencial (DSC) e Termogravimetria e sua derivada (TG/DTG).....</b>	<b>84</b>
<b>3.8. Espectrocopia na Região do Infravermelho com Transformada de Fourier (FTIR) .....</b>	<b>89</b>
<b>3.9. Difração de raios-X (DRX).....</b>	<b>92</b>
<b>4. CONCLUSÃO .....</b>	<b>95</b>
<b>5. CONSIDERAÇÕES FINAIS .....</b>	<b>96</b>
<b>REFERENCIAL BIBLIOGRÁFICO .....</b>	<b>97</b>
<b>APÊNDICE I.....</b>	<b>101</b>

## 1. INTRODUÇÃO

A palma forrageira, *Nopalea cochenilifera* (L.) Salm-Dyck, é uma cactácea amplamente cultivada nas zonas áridas e semiáridas do mundo, devido a sua excepcional adaptação às condições edafoclimáticas dessas regiões. Há muitos anos tem sido utilizada como forragem por pequenos produtores no nordeste do Brasil, onde são cultivadas em centenas de milhares de hectares (SILVA, 2012).

Apesar do seu enorme potencial produtivo e suas múltiplas utilidades, tais como: na alimentação humana, na produção de medicamentos, cosméticos e corantes, na conservação e recuperação de solos, na fabricação de adesivos, colas, fibras para artesanato, papel, corantes e mucilagem; que revelam a versatilidade dessa espécie vegetal, a palma não tem sua potencialidade explorada plenamente. Em consequência, vêm sendo desperdiçadas excelentes oportunidades para melhoria dos índices sociais e econômicos da população sertaneja, mediante a geração de postos de trabalho, renda e preservação ambiental (CHIACCHIO et al., 2006).

Com isso, uma importante associação desse tipo de cultura com a produção de química fina, como a extração de celulose e de outras substâncias dessas plantas, é um importante passo para o desenvolvimento da região, pois os polímeros extraídos podem ser utilizados pela indústria farmacêutica como excipientes para a produção de sistemas de liberação controlada como os filmes poliméricos. Apesar de muitos sistemas poliméricos poderem ser utilizados na preparação de formas farmacêuticas de liberação modificada, os polímeros hidrodispersíveis, como os ésteres da celulose, estão entre os grupos mais frequentemente empregados nestes tipos de formulações. Os ésteres de celulose, particularmente o acetato de celulose, tem assumido um papel vital na produção de matrizes para liberação controlada de fármacos (filmes resistentes e micro/nanopartículas, por exemplo) devido a propriedades essenciais como: baixa toxicidade, boa estabilidade, elevada permeação a água, elevada temperatura de transição vítrea (T<sub>g</sub>) e compatibilidade com uma série de agentes ativos (EDGAR, 2007; GEORGE, 2019).

O uso de filmes polimérico para o tratamento cutâneo é de extrema importância, pois a pele humana, que é considerada o maior órgão do corpo humano, é responsável por diferentes funções, como proteção contra atrito, radiação ultravioleta, perda de água e invasão de microrganismo. Além de desempenhar o papel de barreira de ataque externo, a pele possui um

papel importante na percepção do tato, bem como do processo de termorregulação corpórea pelo o ajuste do fluxo sanguíneo e da transpiração (SZWED; SANTOS, 2016).

Segundo Baratieri, Sangaleti e Trincaus (2015), quando a pele é acometida por um rompimento tecidual, imediatamente inicia-se o processo de cicatrização da ferida, que é realizado de modo dinâmico, complexo, contínuo e independente que envolve fases sobrepostas, para regeneração do tecido. Apesar da variedade de curativos já comercializados, destinados para a regeneração de feridas, não há um produto existente que vai ao encontro de um curativo ideal, visto que a escolha do produto depende de vários fatores, como, condição do paciente, tipo da ferida e estágio da lesão (MOURA et al., 2013). Deste modo, existe uma necessidade real por materiais que possam acelerar o processo de cicatrização, além de propiciar uma maior segurança ao paciente (WIEGAND; HIPLER, 2010).

Com isso, Devi e Dutta (2017) em seu estudo, reforçam a utilização de filmes de poliméricos para tratar feridas cutâneas, nas quais mostram as diversas vantagens que este polímero pode trazer, quando associado a outras substâncias. Devido a isso, a incorporação de insumos farmacêuticos ativos, como o composto JR-19 de nomenclatura *N'*-(1H-indol-3yl) metileno-2-cianoacetohidrazida, pode ser uma substância a ser utilizada para ser incorporada nesses filmes poliméricos, apresentando uma ação farmacológica direcionada ao local de ação na pele. O JR-19 é um derivado do *N*- acilidrazônicos, que em estudos prévios realizados por Apolinário (2016), apresentou uma atividade anti-inflamatória promissora nos modelos de peritonite induzida por carragenina, bolsão de ar subcutâneo e edema de pata induzido por carragenina, com redução significativa da migração leucocitária e do edema, respectivamente. Além de apresentar uma baixa toxicidade.

Tendo em vista tais considerações, este projeto se propõe a desenvolver e estabelecer critérios comparativos entre filmes poliméricos de acetato de celulose, produzido a partir da celulose extraída da *Nopalea cochenilifera* e filmes poliméricos de acetato de celulose comercializados pela Sigma-Aldrich<sup>®</sup>, para a incorporação e liberação controlada do JR-19, de modo que sua atividade anti-inflamatória proporcione um sistema promissor, na forma de filme, para o tratamento de inflamações e cicatrização cutânea.

## 2 OBJETIVOS

### 2.1 Objetivo Geral

O objetivo geral do presente trabalho foi verificar a viabilidade de se produzir filmes poliméricos para incorporação de um derivado N-acilidrazônico a partir de acetato de celulose comercializado pela Sigma-Aldrich® e da celulose extraída da *Nopalea cochenilifera* (L.) Salm-Dyck (palma forrageira) para o tratamento de lesões cutâneas.

### 2.2 Objetivos Específicos

Desta forma, os objetivos específicos são:

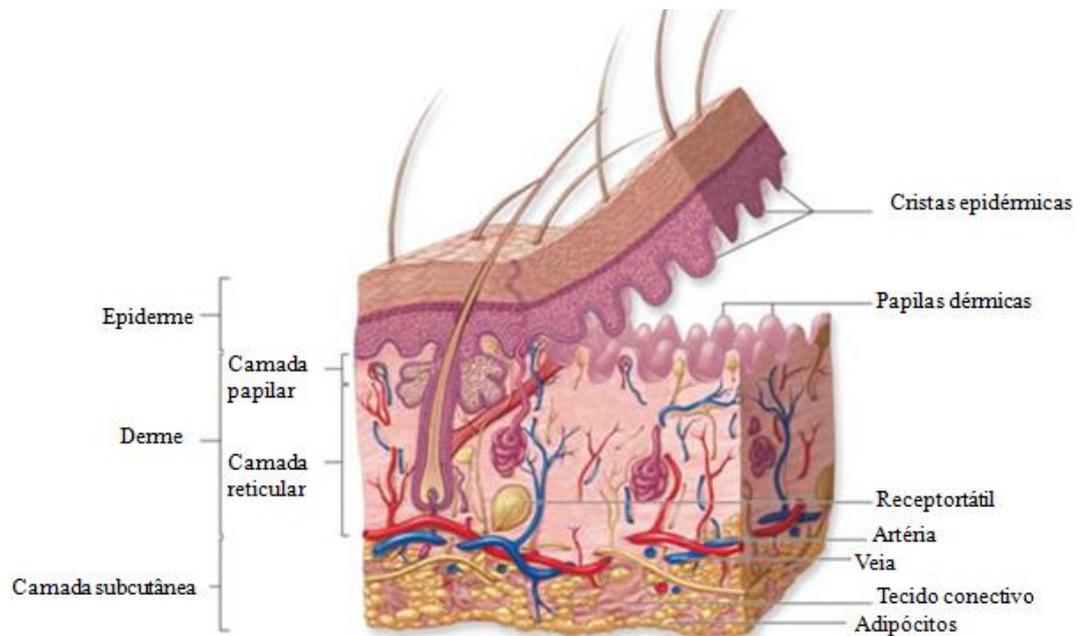
- a) extrair a celulose da *Nopalea cochenilifera* e produzir o acetato de celulose;
- b) caracterizar o acetato de celulose produzido para utilizá-lo para a produção dos filmes poliméricos;
- c) produzir filmes poliméricos com o acetato de celulose obtido da palma forrageira e acetato de celulose comercializado pela Sigma-Aldrich®;
- d) incorporar um derivado N-acilidrazônico (JR-19) nos filmes poliméricos produzidos;
- e) realizar caracterização físico-química e morfológica dos filmes poliméricos antes e após a incorporação do JR-19;

### 3 RERERENCIAL TEÓRICO

#### 3.1 A pele

A pele é considerada o maior órgão do corpo humano, responsável por 15%- 20% do peso corporal total e, em adultos, representa 1,5-2 m<sup>2</sup> de superfície para o ambiente externo, sendo bastante complexo, com no mínimo cinco tipos diferentes de células que contribuem para sua estrutura, além, de outros tipos de células temporariamente presentes a partir do sistema circulatório e imunológico (FORTES; SUFFREDIN, 2014). Este órgão é o primeiro sistema de defesa do ser humano, funcionando como uma barreira contra agentes físicos e patógenos, isolando e protegendo as estruturas internas do organismo além de possuir diversas outras funções consideradas vitais como regulação térmica e metabólica, sensação de tato e de dor. Desta forma, é o órgão mais acessível do corpo humano e, por estar exposto, é o mais frequentemente traumatizável, portanto, está mais sujeitos a lesões e infecções (QUEIROZ et al., 2014; JUNQUEIRA; CARNEIRO, 2017; HIRAO, 2017).

Também conhecida como tegumento ou camada cutânea, a pele é composta pela epiderme, uma camada de epitélio estratificado pavimentoso queratinizado de origem ectodérmica e a derme, uma camada localizada sob a epiderme de tecido conjuntivo frouxo mesodérmico. Entre a derme e a epiderme, projeções denominadas papilas dérmicas interdigitam com as cristas epidérmicas invaginantes para fortalecer a adesão das duas camadas. Derivados epidérmicos incluem cabelos, unhas e glândulas sebáceas e sudoríparas. Abaixo da derme, encontra-se o tecido subcutâneo ou a hipoderme, uma camada de tecido adiposo, geralmente contendo almofadas de células chamadas de adipócitos. (SZWED; SANTOS, 2016; HARRIS, 2018). Na figura 1 podemos observar uma visão geral diagramática da pele, mostrando as principais camadas e apêndices epidérmicos (folículos pilosos, glândulas odoríparas e glândulas sebáceas), a vasculatura e os principais receptores sensoriais.

**Figura 1-** Estrutura da pele.

Fonte: Adaptado de Duarte, 2018.

As respectivas camadas apresentam células especializadas, a epiderme, por exemplo, é mais abundantemente composta por células chamadas de queratinócitos, representando cerca de 80% das células nessa camada. Existem também outros três tipos de células epidérmicas menos abundantes: os melanócitos, células produtoras de pigmentos; células de Langerhans que participam de reações imunológicas como apresentadoras de antígenos; e células epiteliais táteis que apresentam função sensorial, as chamadas células de Merkel (DUARTE, 2018).

A epiderme é a camada mais externa da pele e apresenta um pH discretamente ácido, contribuindo, portanto, para proteção bactericida e fungicida em sua superfície, além disso, a estrutura dessa camada é organizada de forma compacta e impermeável, apresentando espessura de 0,1 a 0,2 mm perfurada por poros dos folículos pilossebáceos e das glândulas sebáceas e sudoríparas, originadas na derme, mas são apêndices da epiderme (WANDERLEY, 2019). Essas características de proteção ocorrem devido à atividade celular dos queratinócitos que saem da camada basal para o epitélio, formam uma rede celular muito dinâmica e fisicamente resistente associada de maneira íntima à remodelação do citoesqueleto celular e formação da estrutura supracelular de filamentos interconectados, como hemidesmossomos e desmossomos. De forma simultânea a esse processo de migração ocorre uma gradual diferenciação celular associada à produção crescente de queratina, proteína de

extrema importância para função final desse tipo celular. Essas células formam o centro estrutural da camada morta da pele queratinizada, eficaz na proteção contra a abrasão, agressões químicas e físicas, dessecação, penetração de patógenos e proteção geral contra intempéries do ambiente. Quando formados, os queratinócitos são empurrados sucessivamente para as camadas mais superficiais da pele, dando lugar à produção de novas células (BOULAIS et al., 2009; SILVA; ZAMBUZZI, 2013; EULÁLIO, 2016; HIRAO, 2017; HARRIS, 2018).

A outra camada celular, a derme, é constituída por dois estratos, sendo um tecido conjuntivo frouxo, composto por fibras colágenas elásticas e por muitos vasos sanguíneos que fornecem nutrientes e oxigenação à epiderme, sendo esta chamada de papilar ou superficial. E existe também outra camada mais profunda e espessa, chamada de reticular, constituída de feixes densos de fibras de colágenos em várias direções que lhe atribuem característica de tecido conjuntivo denso. Nessas estruturas também são encontrados derivados da epiderme, como folículos pilosos, glândulas sebáceas e sudoríparas, além de vasos linfáticos, terminações nervosas e órgãos dos sentidos (GUIRRO, 2004; COSTA, 2009; KHAN et al., 2018).

A derme tem origem mesodérmica, sobre a qual a epiderme é sustentada e comunica-se com a hipoderme. A derme é uma camada de espessura entre 1 a 4 mm e é essencialmente constituída por fibroblastos, responsáveis pela produção de colágeno e elastina que são chamadas de matrizes extracelulares e tem fundamental importância para qualidade da pele. Essas proteínas arquitetam uma rede na derme que fornece propriedades físicas para recuperação da mesma após deformações e são também responsáveis por manter e dá sustentação as células. Nas interfaces destas estruturas proteicas são encontrados vários mucopolissacarídeos, como o ácido hialurônico, sulfato de condroitina e sulfato de heparano (HIRAO, 2017; DUARTE, 2018).

A camada mais interna, a hipoderme ou camada subcutânea, é composta por dois estratos: o areolar, que possui um caráter mais superficial e é formado por adipócitos globulares e de grande volume em disposição vertical; e o lamelar, composto por células de menor porte, de características alongadas e no plano horizontal. A espessura da hipoderme é variável, a depender do acúmulo de adipócitos a qual a pele repousa. Os adipócitos são delimitados por septos de colágenos com vasos sanguíneos e linfáticos. São eles os responsáveis por modelar a superfície corpórea, reserva energética, auxiliam no isolamento térmico e na proteção mecânica do organismo contra traumas externos. Toda a hipoderme é

formada por tecido conjuntivo frouxo ao denso ou adiposo, dependente da localização e das características do indivíduo (BLANCK, 2014 JUNQUEIRA; CARNEIRO, 2017; WANDERLEY, 2019).

### **3.2 Inflamação e cicatrização fisiológica da pele**

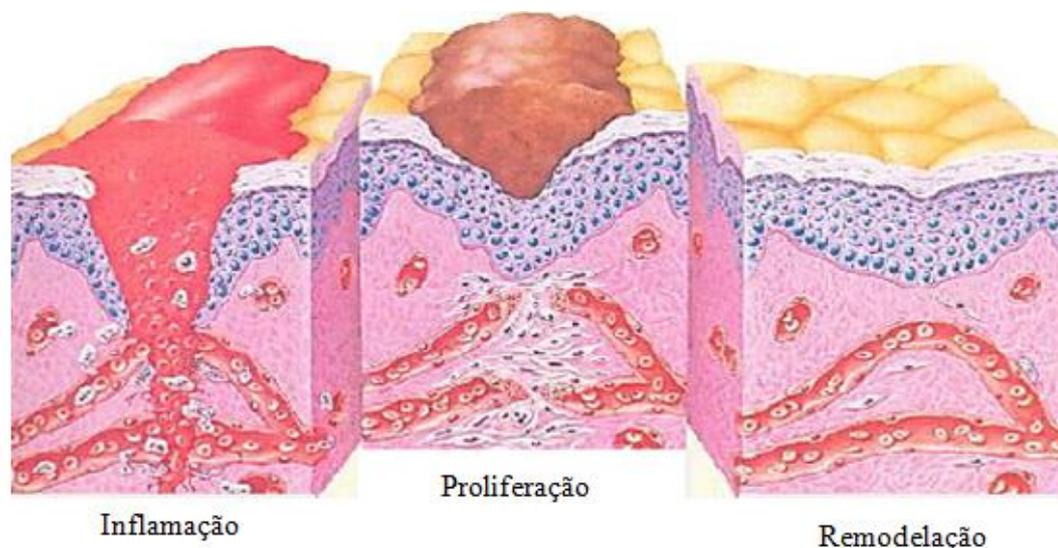
Podemos definir a inflamação como um complexo processo de defesa onde a região atingida é tomada por um aspecto avermelhado e quente, sendo, portanto, desencadeado por estímulos nocivos que incluem infecções, reações imunológicas e lesões teciduais. A resposta inflamatória é caracterizada por acúmulo de fluidos e de leucócitos com o intuito de eliminar os agentes nocivos (HERNÁNDEZ et al., 2013; GOODMAN; GILMAN, 2015). Embora esse fenômeno esteja dividido em fases, todos os processos acontecem de forma simultânea, fazendo da inflamação um processo dinâmico. Inicialmente, podem-se observar modificações morfológicas e funcionais dos tecidos agredidos promovendo a liberação de mediadores químicos, essa etapa é chamada de fase irritativa, responsável por desencadear as outras fases inflamatórias. Por toda a região atingida são observadas alterações hemodinâmicas da circulação e da permeabilidade vascular no local da agressão, essa é a fase vascular. A fase exsudativa é caracterizada pela migração de líquidos e células para o foco inflamatório, oriundos do aumento da permeabilidade vascular. A fase degenerativa ou necrótica é marcada pela presença de células mortas, necrosadas e produtos de degeneração, consequentes das fases anteriores. Na fase produtiva ou reparativa ocorre a multiplicação de células e reparação tecidual, visando recompor o tecido lesionado (PECONICK; KALKS, 2011). Independente do estímulo inicial, os sinais clínicos clássicos incluem: eritema, edema, hipersensibilidade e dor, podendo culminar com a perda da função (APOLINÁRIO, 2016).

O reparo tecidual é comum a todas as feridas, independentemente do agente que a causou, sendo este dado de forma sistêmica e dinâmica, estando diretamente relacionado às condições gerais do organismo. A cicatrização de feridas é coordenada a partir de uma cascata de eventos celulares, bioquímicos e moleculares que interagem entre si para que ocorra a reconstituição do tecido danificado, portanto, quando se trata de lesões cutâneas, considerada uma interrupção da continuidade da pele, que caracteriza uma ferida, se faz necessário o conhecimento a respeito de tal processo para que se aborte de forma correta visando priorizar a homeostasia do organismo e o bem-estar do paciente (CAMPOS; BORGES-BRANCO; GROTH, 2007; WANDERLEY, 2019).

O processo de cicatrização se inicia imediatamente após a ocorrência de uma lesão para que o tecido lesionado seja substituído por um tecido conjuntivo vascularizado, esse mecanismo irá promover o reestabelecimento da homeostase tecidual. As feridas são eventos que podem afetar a fisiologia da pele, em especial aquelas que acometem a camada dérmica. A cura de uma lesão cutânea é bastante complicada, incluindo uma vasta gama de processos celulares, moleculares, fisiológicos e biológicos (KIM et al., 2007). Diante disso, e considerando que a pele é um tecido bastante exposto aos fatores ambientais, também se faz necessária a compreensão da ação desses fatores na tentativa de minimizá-los.

Após uma lesão, um conjunto de eventos bioquímicos se estabelece para reparar o dano e promover a cicatrização (PAGANELA, 2009). Os eventos que desencadeiam a cicatrização são intercedidos e sustentados por mediadores bioquímicos, descritos em diferentes fases, que correspondem aos principais episódios observados em determinado período de tempo (LIMA et al., 2012). O processo de reparação tecidual pode ser dividido didaticamente em três fases que se superpõem: fase inflamatória, proliferativa e de remodelação como podemos observar na figura 2. (SHIMIZU, 2005).

**Figura 2-** Representação gráfica da resposta normal de pele a feridas, durante as três fases do processo de cicatrização.



Fonte: adaptado de Wanderley 2019.

A fase inflamatória é a etapa crucial da cicatrização, ela tem início no exato momento da lesão e perdura por aproximadamente de dois a três dias. Durante essa primeira fase ocorre inicialmente a hemostasia em resposta a agentes inflamatórios, nesta etapa há uma diminuição

do afluxo sanguíneo pela vasoconstrição. A partir do momento em que há extravasamento de sangue dos vasos lesionados, plaquetas são ativadas pelo fibrinogênio sérico que são clivados pela trombina resultante das vias de coagulação, formam-se monômeros de fibrina que se polimerizam pela ação do fator XIII para que junto com plaquetas formem um tampão hemostático e não haja mais perda de sangue, permitindo a impermeabilização que protege da contaminação (MITCHELL et al., 2012; ALMEIDA, 2017).

Desta forma, todo o processo viabiliza a movimentação de fatores de crescimento e quimiocinas para o local, esses mediadores bioquímicos aumentam a permeabilidade vascular, favorecem a exsudação plasmática e a passagem de elementos celulares para a área da ferida, facilitando a migração sequencial de células como leucócitos polimorfonucleares (PMN), macrófagos e linfócitos (CHOPAIDE; MULA, 2010). A exemplo disso, os neutrófilos surgem pela mediação do endotélio ativado. Este tecido tem sua fisiologia alterada por IL-1 (interleucina-1) e TNF- $\alpha$  (fator de necrose tumoral- $\alpha$ ), ambos secretados por macrófagos e pelo próprio endotélio, sendo que a primeira citocina também é expressa por queratinócitos (CASTRO, 2011). Essas células removem partículas estranhas, bactérias e tecido morto do leito da ferida, sendo que a ação antimicrobiana dos polimorfonucleares se dá pela produção de radicais livres de oxigênio. Já os macrófagos, que são monócitos que se diferenciam sob o estímulo de substâncias como o IFN- $\gamma$  (interferon- $\gamma$ ), de modo a aumentar a síntese proteica, seu tamanho celular, o aparelho de Golgi e o número de lisossomos, microtúbulos e microfilamentos, apresentam essa atividade pela síntese aumentada de óxido nítrico (NO), que reage com peróxidos e gera um agente ainda mais potente do que o primeiro. Nesta fase do processo de cicatrização o NO também age na vasodilatação e no aumento da permeabilidade vascular (FRANCISCHETTI et al., 2010; MOTA, 2013; APOLINÁRIO, 2016).

Também participam do processo os mediadores bioquímicos de ação curta, como a histamina e serotonina, e as mais duradouras como a leucotaxina, bradicinina e prostaglandina. A prostaglandina é um dos mediadores mais importantes no processo de cicatrização, pois além de favorecer a exsudação vascular, estimula a mitose celular e a quimiotaxia de leucócitos (LIMA et al., 2012).

A segunda fase, chamada de proliferativa é composta de três eventos importantes que sucedem o período de maior atividade da fase inflamatória: angiogênese, fibroplasia e epitelização. Esta fase inicia-se por volta do 3º dia após a lesão e perdura por 2 a 3 semanas, sendo o marco inicial da formação da cicatriz, caracterizada pela formação de tecido de granulação, que é constituído por um leito capilar, fibroblastos, macrófagos, um frouxo

arranjo de colágeno e ácido hialurônico (CAMPOS; BORGES-BRANCO; GROTH, 2007; MITCHELL et al., 2012; ALMEIDA, 2017).

A angiogênese é o processo de formação de novos vasos sanguíneos, necessário para manter o suprimento sanguíneo dos fibroblastos responsáveis pela síntese de colágeno. Os novos vasos formam-se a partir de brotos endoteliais sólidos, que migram no sentido da periferia para o centro da ferida, sobre a malha de fibrina depositada no leito da ferida. A bradicinina, a prostaglandina e outros mediadores químicos oriundos dos macrófagos, ativados, estimulam a migração e a mitose das células endoteliais (TAZIMA 2008).

A fibroplasia ocorre pelas células mesenquimais que são transformadas em fibroblastos e atraídas para o local inflamatório, onde se dividem e produzem os componentes da matriz extracelular. O fibroblasto só aparece no sítio da lesão a partir do 3º dia, quando os leucócitos polimorfonucleares já fizeram seu papel higienizador da área traumatizada. A função primordial dos fibroblastos é sintetizar colágeno, ainda na fase celular da inflamação. O colágeno é uma proteína de alto peso molecular, que se organizam em cadeias longas de três feixes polipeptídicos em forma de hélice, responsáveis pela força da cicatriz. A síntese de colágeno é dependente da oxigenação das células (TAZIMA 2008; LAUREANO, 2011).

Na epitelização fatores de crescimento epidérmicos estimulam a proliferação de células do epitélio. As células epiteliais migram, a partir das bordas, sobre a área da ferida e dos folículos pilosos próximos, induzindo a contração e a neoepitelização, assim, reduz a superfície da ferida. Os ceratinócitos migram para recobrir a lesão. As células epiteliais movem-se, aos saltos e desordenadamente, até as bordas, aproximando-as. A epitelização envolve uma sequência de alterações nos ceratinócitos da ferida: separação, migração, proliferação, diferenciação e estratificação (TAZIMA 2008; OLIVEIRA, 2012).

Por fim, a remodelação onde acontece a maturação da ferida, a última fase da cicatrização, tem início durante a 3ª semana, começando ainda na fase proliferativa. Esta etapa é caracterizada por um aumento da resistência, sem aumento na quantidade de colágeno, de forma que, os fibroblastos sintetizam o colágeno e outros componentes da matriz extracelular, responsáveis pela formação de um tecido cicatricial maduro, havendo um equilíbrio de produção e destruição das fibras de colágeno neste período, por ação da colagenase. O desequilíbrio desta relação favorece o aparecimento de cicatrizes hipertróficas e quelóides. O aumento da resistência deve-se à remodelagem das fibras de colágeno, com aumento das ligações transversas e melhor alinhamento do colágeno, ao longo das linhas de tensão. A fase de maturação dura toda a vida da ferida, embora o aumento da força tênsil se

estabilize. As metaloproteínases, que são produzidas pelos neutrófilos, macrófagos, células epiteliais e fibroblastos, orientam as fibras a serem ressintetizadas e organizadas de acordo com o sentido das fibras do tecido conjuntivo adjacente, resultando na formação de fibras de colágenos maiores e uma cicatriz com caráter mais uniforme (TAZIMA 2008; WILGUS, 2008; ISAAC, 2010; SANTOS, 2016; ALMEIDA, 2017).

Portanto, as lesões de pele representam um grande desafio para os profissionais da saúde, visto que os curativos mais modernos são, em sua maioria, importados e de alto custo. Diante disso, a exploração de recursos naturais e a utilização de meios tecnológicos simples e de baixo custo, associado à valorização regional do cultivo das plantas do semiárido, como a palma forrageira, juntamente com a estimulação dos estudos no campo farmacêutico para o desenvolvimento de matrizes poliméricas como dispositivos inovadores que atuem como sistemas de liberação controlada de fármacos, possibilitando a obtenção de curativos alternativos aos convencionais, apresentam-se como medidas que podem representar uma saída para melhoria do arsenal terapêutico nesse cenário (SILVA, Natan 2015; LINO et al., 2017; WANDERLEY, 2019).

### **3.3 Palma forrageira (*Nopalea cochenilifera* (L.) Salm-Dyck) e derivados celulósicos**

A palma forrageira pertence à divisão Embryophyta, subdivisão Angiospermea, classe Dicotyledoneae, subclasse Archiclamideae, ordem Opuntiales e família das Cactáceas. Inclui cerca de 2000 espécies, distribuídas em 178 gêneros, todavia, nos gêneros *Opuntia* e *Nopalea* estão presentes as espécies de palma mais cultivadas no semiárido nordestino (SILVA; SANTOS, 2006). Relata Galvão Júnior (2014) que a espécie *Nopalea cochenilifera* (L.) Salm-Dyck é uma planta tropical ou subtropical cultivada em regiões áridas e semiáridas de todo o mundo, graças a seus mecanismos adaptativos que permitem crescer e se desenvolver mesmo em condições adversas de solo, temperatura, disponibilidade de água e de nutrientes. Esta espécie recebe diferentes nomes regionais, como palma miúda ou palma doce. São plantas de pequeno porte e caule bastante ramificado, sua raquete (cladódios) pesa cerca de 350 g, com média de 25,0 cm de comprimento, largura média de 9,0 cm e forma acentuadamente abovaladas (ápice mais largo que a base) com coloração verde intenso. Suas flores são vermelhas e o fruto apresenta coloração roxa (MARTINS, 2011; GALVÃO JÚNIOR, 2014). As características físicas descritas podem ser observadas na figura 3.

**Figura 3-** Fotografia da *Nopalea cochenilifera* (L.) Salm-Dyck.



Fonte: Dados da pesquisa.

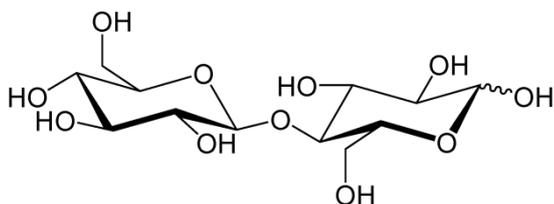
A *Nopalea cochenilifera*, quando comparada a outras espécies apresentam-se como mais nutritivas e mais palatáveis para o gado bovino, apesar de apresentarem menor resistência à seca. Essa espécie é uma variedade resistente à cochonilha do carmim (*Dactylopius opuntiae*), inseto que se alimenta da seiva das plantas e é capaz de introduzir vírus ou toxinas que podem causar a destruição de plantações de espécies suscetíveis a esta praga, como é o caso da espécie *Opuntia ficus indica* (GALVÃO JÚNIOR, 2014).

A composição química da palma varia de acordo com a espécie, variedade, idade da planta e do cladódio, nível de fertilidade do solo, espaçamento e época do ano. De uma forma geral, a palma apresenta baixo nível de matéria seca, e baixo teor de fibras (NETO, 2009; SANTOS et al., 2005). A palma forrageira possui um enorme potencial que ainda é pouco explorado para aplicações na indústria farmacêutica, porém, nos últimos anos vem despertando interesse de muitos pesquisadores por se tratar de uma cultura bastante difundida e apresentar, em sua composição, polímeros como a celulose e hemicelulose (MALHEIROS, 2014).

Os polímeros são compostos de cadeia longa, com alto peso molecular, extraídos de plantas marinhas, sementes, exsudatos de árvores e de colágeno animal. Alguns são produzidos por modificação de polissacarídeos naturais ou por síntese microbiana. A celulose é um dos polímeros de maior abundância na natureza e componente de interesse prioritário entre os derivados da biomassa (YU; DEAN; LI, 2006). Segundo Doherty, Mousavioun e Fellows (2011), juntamente com a hemicelulose e a lignina, a celulose compõe a biomassa lignocelulósica das plantas. Estas matérias-primas são de difícil fracionamento, das quais apenas a celulose tem sido eficientemente explorada.

Em 1838 o Físico Payen descobriu a celulose, atualmente podemos descrever este polímero como um homopolissacarídeo de cadeia linear, formado por unidades repetidas de celobiose (duas moléculas de glicose), como podemos observar na Figura 4. É um polímero semicristalino que apresenta regiões cristalinas, altamente organizadas e também regiões amorfas, onde as cadeias se agrupam de forma irregular. Possui fórmula molecular  $(C_6H_{10}O_5)_n$  e nomenclatura química  $\beta$ - 1,4-poliacetil de celobiose (4-O- $\beta$ -D-glucopiranosil-D-glucose) (LAVOINE et al., 2012). A celobiose contém seis grupos de hidroxila que estabelecem pontes de hidrogênio intra e intermolecular. O grau de cristalinidade da celulose varia de acordo com sua origem e processamento (SILVA, 2014).

**Figura 4-** Estrutura da celobiose, unidade constitucional da celulose.



Fonte: Adaptado de Ribeiro 2013

Sabe-se hoje em dia que a celulose corresponde a 40% de toda reserva de carbono disponível na biosfera, sendo a fonte mais abundante deste elemento base dos componentes orgânicos (RABELO, 2007). Devido a sua elevada cristalinidade, a celulose é insolúvel em água e em boa parte dos solventes orgânicos, sendo esta característica responsável por reduzir significativamente sua aplicação em sua forma original. Desta forma, alterações estruturais em sua estrutura polimérica, derivatizando parcial ou totalmente os grupamentos hidroxilas da sua estrutura podem ser uma alternativa para mudar suas características físico-químicas e viabilizar seu uso (KLEMM, et al., 2005; SAMIR, 2006). A celulose pode sofrer diversas reações nos grupamentos hidroxila da sua estrutura, dentre elas: adição, substituição, nitração, oxidação, esterificação e acetilação (SILVA NETO, 2018).

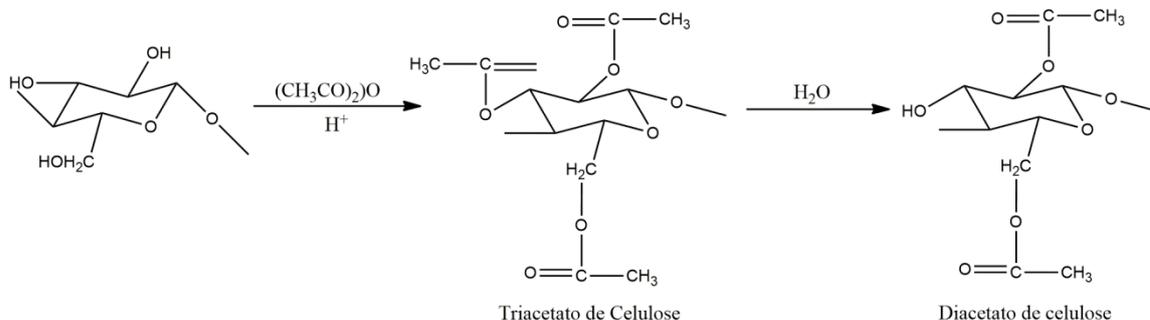
A acetilação da celulose confere ao polímero importantes características para seu uso pela indústria farmacêutica devido a propriedades essenciais como: baixa toxicidade, biodegradabilidade, boa estabilidade, elevada permeação a água, elevada temperatura de transição vítrea e compatibilidade com uma série de agentes ativos (EDGAR, 2007). Desta

forma esse polímero deve ser mais amplamente estudado no desenvolvimento de matrizes para liberação controlada de fármacos.

### 3.4 Acetato de celulose

O acetato é um dos mais importantes ésteres orgânicos derivados da celulose, sendo produzido a partir de uma reação de acetilação da celulose utilizando ácido acético como solvente, anidrido acético como agente acetilante e ácido sulfúrico como catalisador, essa reação leva a substituição de três grupos hidroxila do monômero, por três grupos acetila, formando assim triacetato de celulose que é solúvel em solventes clorados, conforme podemos observar na figura 5 (EDGAR et AL., 2001). As modificações também podem ocorrer em diferentes graus de substituição que podem variar na troca de um a três grupamentos hidroxila por acetila, o que confere também propriedades diferentes, sendo um importante parâmetro, pois afeta a cristalinidade do polímero, influenciando também na biodegradabilidade e solubilidade em diferentes solventes (FERREIRA JUNIOR, 2009).

**Figura 5-** Obtenção do acetato de celulose por acetilação da celulose.



Fonte: Adaptado de Silva 2014

Na produção do acetato de celulose em escala industrial é utilizada polpa celulósica da madeira de elevada pureza. Entretanto, a celulose também tem sido obtida a partir de outras fontes, como: bagaço de cana de açúcar, sabugo de milho, palha de arroz, caroço de manga e palma forrageira. As principais características esperadas para a fonte celulósica empregada são: elevado conteúdo de  $\alpha$ -celulose, baixa quantidade de impurezas (resinas, ceras, sais entre outras) e massa molecular moderada (CRUZ et al., 2011). O acetato de celulose é considerado um polímero neutro e de baixo custo, essas características permitem seu uso nas mais diversas áreas da indústria incluindo têxteis, absorvente de óleo, adsorção de metais, membranas para

processos de separação, tais como hemodiálise e osmose reversa, além de emprego na formação de matrizes para incorporação de fármacos (CERQUEIRA, 2010).

Esses derivados celulósicos, por sua vez, têm sido utilizados com êxito na produção dos chamados Novos Sistemas de Liberação de Fármacos, do inglês *New Drug Delivery Systems* (NDDS) que são capazes de prolongar, controlar, retardar ou direcionar a liberação do fármaco, melhorando seus resultados terapêuticos e facilitando a adesão do paciente.

### **3.5 Sistemas Poliméricos para carreação de fármacos**

Na atualidade, a maioria dos fármacos é veiculada em formas farmacêuticas ditas convencionais e, geralmente, elas não conseguem atingir concentrações apreciáveis no tecido alvo do organismo porque entre o local de aplicação e o alvo onde deve exercer seu efeito farmacológico, interpõem-se uma série de barreiras biológicas, as quais expõem os tecidos normais do organismo aos efeitos potencialmente tóxicos dos fármacos (SILVA et al., 2010). Dessa forma, a investigação de sistemas de liberação, que incluem a modulação do processo de dissolução, a redução da toxicidade e o aumento da adesão e da conveniência do paciente, torna-se de extrema importância (RESTANI et al., 2010). Além disso, afirma Evangelista (2006) que essas estratégias podem tornar os fármacos mais disponíveis em alvos específicos, para produzir um melhor efeito terapêutico.

A matriz ideal para liberação de fármacos deve ser biocompatível, confortável para o paciente, capaz de carregar altas cargas de fármacos, simples para administração e remoção, fácil de fabricar e esterilizar e de baixo custo. As propriedades físicas (mecânica, degradação, formação do gel), propriedades do transporte (difusão) e propriedades biológicas (adesão celular e sinalização) são essenciais para a seleção da matriz dos filmes poliméricos em cada aplicação específica (DRURY; MOONEY, 2003). Polímeros biorreabsorvíveis têm sido muito usados na área médica em decorrência das inúmeras vantagens apresentadas por essa classe. Dentre elas, a capacidade de degradação dentro do organismo como resultado de processos biológicos naturais, eliminando a necessidade de remoção do sistema de liberação de fármaco após a completa eliminação do princípio ativo (SILVA, Natan, 2015).

As formas de dosagem atuais para aplicação tópica, isto é, adesivos, pomadas, cremes, estão associadas a várias limitações. Os adesivos apresentam várias desvantagens, dentre elas irritação da pele por causa de suas propriedades oclusivas que obstruem os dutos de suor e evitam a perda de vapor de água da superfície da pele, além de dificuldade de aplicação nas superfícies curvas, dor ao serem retirados e baixo apelo estético. Preparações semissólidas

como os cremes e pomadas superam algumas dessas desvantagens, mas tem outras limitações. Elas não garantem contato persistente com a superfície da pele e podem ser facilmente removidas com as roupas do paciente. Portanto, é necessário a aplicação repetida, além disso, elas deixam uma sensação pegajosa e oleosa após a aplicação, levando à baixa adesão do paciente. Desta forma, é necessário o desenvolvimento de uma forma de dosagem que permita uma aplicação menos frequente, mantendo um contato próximo com a pele por um período de tempo prolongado, melhorando assim a adesão do paciente (KARKI et al., 2016; KATHE, 2017).

Para aplicação tópica dos filmes poliméricos, os fármacos precisam ter propriedades adequadas, independentes da forma de dosagem. Geralmente, os fármacos aplicáveis a esses sistemas são altamente potentes, com alta capacidade de permeação na pele, não causam irritação na pele e que são relativamente estáveis às enzimas presentes na epiderme. Outras propriedades dos fármacos, como o coeficiente de partição é importante para ditar o caminho que o fármaco seguirá através da pele. O peso molecular também é um fator importante na permeação, pois pequenas moléculas permeiam a pele humana mais rapidamente que as grandes. Em relação aos polímeros, uma vasta gama pode ser utilizado para alcançar as propriedades desejadas do filme, além disso, estes podem ser utilizados sozinhos ou em combinação com outros polímeros formadores de filme. Esses polímeros devem formar um filme flexível e compatível a pele (FELTON, 2013; KATHE, 2017)

O acetato de celulose manifesta boa biocompatibilidade, biodegradabilidade e baixa toxicidade e, portanto, é um dos principais substitutos para os materiais derivados de petróleo para desenvolvimento de filmes usados como curativos modernos (EDGAR et al., 2001; KLEMM et al., 2005). Neste sentido, matrizes poliméricas a base de celulose têm-se mostrado ideais, pois apresentam as características adequadas para a aplicação em questão. A associação das características que fazem da celulose um potencial agente liberador de drogas com uma substância a ser utilizada para ser incorporada nos filmes poliméricos, apresentando uma ação farmacológica, como os derivados do N- acilidrazônicos, direcionada ao local de ação na pele, vislumbra os biomateriais dela obtidos para reparação tecidual.

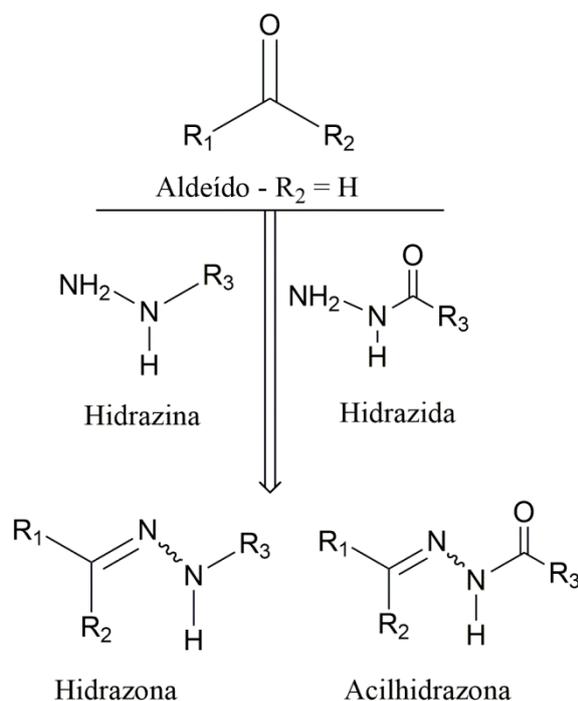
### **3.6 Derivados N-acilidrazônicos**

A química medicinal é responsável pela pesquisa por novos fármacos que possam ser empregados como alternativos aqueles já consolidados no mercado. A descoberta e desenvolvimento de novas substâncias químicas bioativas, síntese ou modificação molecular,

extração, isolamento, identificação e elucidação estrutural de princípios ativos oriundos de plantas, animais ou minerais são atribuições inerentes a esta área da pesquisa. A compreensão, a nível molecular, de processos bioquímicos, toxicológicos e farmacocinéticos e a criação de relações entre estrutura química e atividade farmacológica caracteriza-se por sua complexidade, diante dos múltiplos fatores que envolvem o planejamento molecular de novas estruturas com potenciais efeitos farmacológicos, biodisponibilidade adequada ao seu emprego terapêutico, segurança e conforto (BARREIRO et al, 2002; COSTA, 2015).

Os derivados acilidrazônicos destacam-se como uma importante classe de compostos químicos sintéticos por suas diversas propriedades biológicas (SILVA, S, 2015). As substâncias que contêm em suas estruturas uma função hidrazona ou grupo hidrazônico, de estrutura geral  $-C=N-NH-$  têm se destacado nas últimas décadas e são relatadas na literatura como inibidoras das cicloxigenases e 5-Lipoxigenase, apresentando, portanto, pronunciadas atividades analgésica e anti-inflamatória (REIS, et al, 2011). O respectivo composto foi descoberto por Emil Fischer em 1883 e sua obtenção é dada pela reação de condensação de hidrazinas ou hidrazidas com aldeídos e cetonas, conforme a Figura 6. Uma vez que a hidrazina seja uma N-acilidrazina, o produto é uma N-acilidrazona (PARRILHA, 2012; APOLINÁRIO, 2016; GUIMARÃES et al., 2017).

**Figura 6-** Reação geral de formação de uma hidrazona

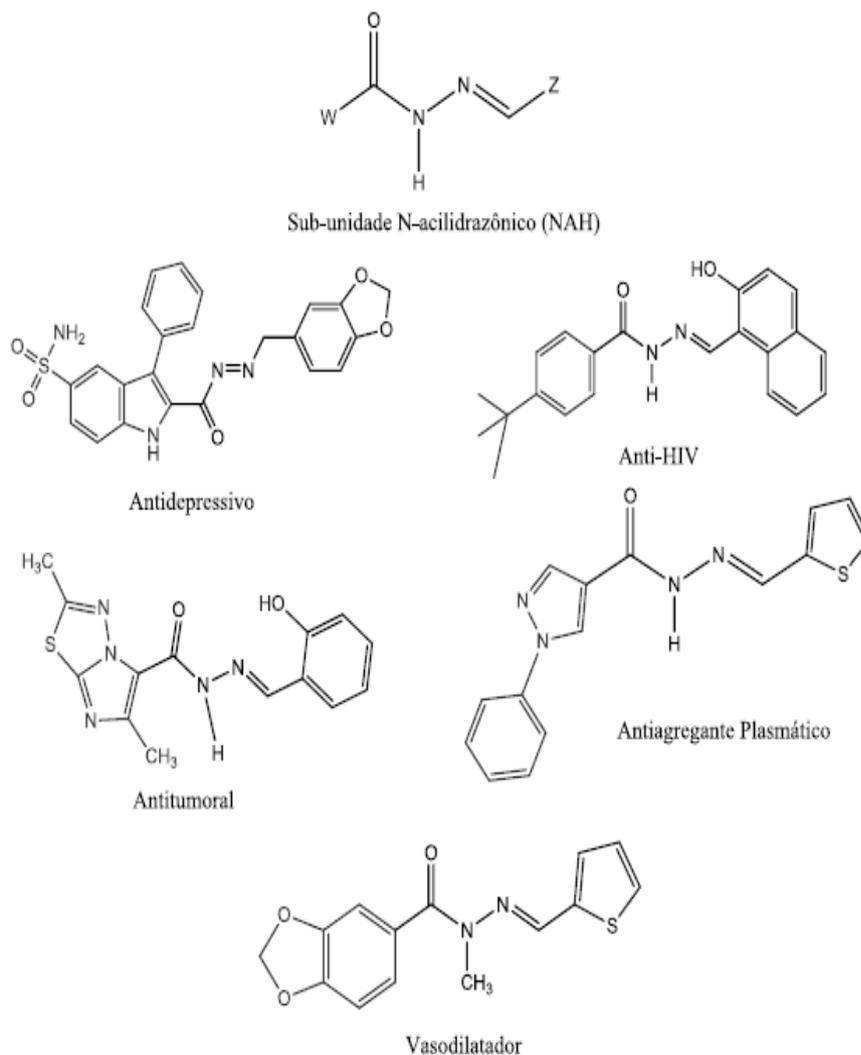


Fonte: adaptado de Guimarães et al., 2017.

A subunidade *N*-acilidrazona é considerada um fragmento privilegiado presente em várias moléculas bioativas e em candidatos a protótipos de fármacos desde a década de 70 (MAIA; TESCH; FRAGA, 2017). Seus derivados têm se destacado como uma importante classe de compostos químicos e sintéticos por apresentarem pronunciadas propriedades biológicas (REPICH et al., 2017), tais como: atividade antiparasitária (SERAFIM et al., 2014); antiviral (ROGOLINO et al., 2015); antibacteriana (NATASĂ et al., 2015); antifúngica (LAZZARINI et al., 2018); analgésica e anti-inflamatória (MEIRA et al., 2018); antiagregante plaquetária (BARREIRO; FRAGA, 2009); antituberculosa (HOSNY; MORSY; SHERIF, 2015); antitumoral (RODRIGUES et al., 2016), entre outras. Além de suas aplicações na medicina, também são utilizados como reagentes analíticos e no desenvolvimento de materiais fluorescentes (JARCZYK-JEDRYKA et al., 2016).

Através de estratégias da Química Medicinal de modificação molecular, utilizando das técnicas de hibridação, de bioisoterismo, da homologação, restrição conformacional e simplificação molecular, que promovem a variação racional das subunidades estruturais da região amídica (W) e imínica (Z), as diferentes atividades biológicas dos derivados *N*-acilidrazônicos podem ser apresentadas, conforme a Figura 7 (LIMA; BARREIRO, 2005; ROLLAS; KÜÇÜKGÜZEL, 2007; WERMUTH, 2008; BARREIRO; FRAGA, 2009; MOURA, 2016).

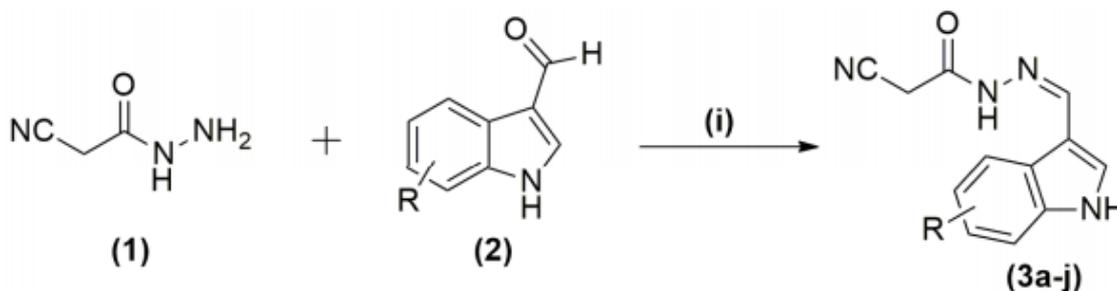
**Figura 7-** Estrutura básica da função *N*-acilidrazona e seus perfis de bioatividade.



Fonte: Barreiro e Fraga (2009).

No estudo realizado por Moraes et al. (2018) foi empregada uma reação de condensação entre o composto cianoacetohidrazida e diferentes substituintes na região carboxialdeídos 3-indol. A reação ocorreu sob catálise ácida, para formar o carboxialdeído que em seguida sofreu ataque nucleofílico da função hidrazida, resultando na eliminação de água ( $H_2O$ ) e formação de um *N*-acilidrazona, conforme a Figura 8.

**Figura 8-** Síntese de derivados *N*- acilidrazonas indolicos, utilizando (i) ácido acético (AcOH) e etanol (EtOH) em temperatura ambiente.



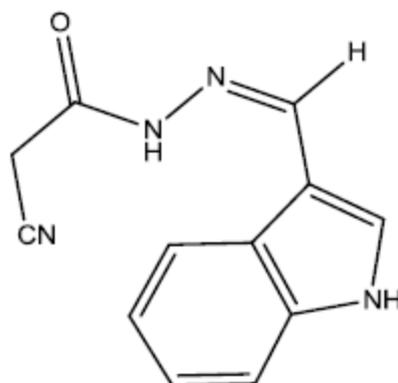
Fonte: adaptado de Moraes et al. (2018).

Moraes et al. (2018) citaram que os novos compostos contendo *N*-acilidrazona com unidades indol foram obtidos e sua atividade anti-inflamatória foi avaliada com sucesso. Testes de inibição da proliferação de linfócitos indicaram que estes compostos agem na fase celular do processo inflamatório. Ensaio *in vivo* corroboram com os *in vitro*, onde os valores máximos de supressão do edema de pata de camundongo foram observados na fase celular tardia, além disso, os resultados de inibição de COX-1 e COX-2 indicam que o composto com o substituinte indolico atua como inibidor seletivo de COX-2, resultado este reforçado pelos ensaios imunológicos, fornecendo um perfil uma molécula bem equilibrada, no contexto da farmacodinâmica e farmacocinética. Portanto, os autores consideram este derivado como um composto líder no desenvolvimento de fármacos anti-inflamatórios.

Devido a isso, a incorporação de insumos farmacêuticos ativos, como o composto JR-19 de nomenclatura *N'*-(1H-indol-3yl) metileno-2-cianoacetohidrazida, que foi obtido pela mesma rota sintética da Figura 8, pode ser uma substância a ser utilizada para ser incorporada nos filmes poliméricos, apresentando uma ação farmacológica direcionada ao local de ação na pele. O JR-19, conforme sua estrutura química pode ser observada na figura 9, é um derivado do *N*- acilidrazônicos, que em estudos prévios apresentou uma atividade anti-inflamatória promissora nos modelos de peritonite induzida por carragenina, bolsão de ar subcutâneo e edema de pata induzido por carragenina, com redução significativa da migração leucocitária e do edema, respectivamente. Além de ter apresentado caráter ativo na fase inflamatória do modelo de nocicepção induzida por formalina e no modelo de dor orofacial, o estudo indicou que o mesmo está envolvido com mecanismos periféricos, atuando na dor inflamatória. (APOLINÁRIO, 2016) A autora também cita que a molécula JR19 não apresentou toxicidade aguda, visto que não houve morte nem alterações comportamentais ou fisiológicas dos animais em estudo, utilizando uma dose de 20 mg/Kg. Desta forma, a JR19 revela-se como

uma molécula promissora para o desenvolvimento de novos e eficazes fármacos, que em associação com polímeros naturais, a exemplo do acetato de celulose na forma de filmes, pode representar uma forma alternativa para liberação de novos compostos ativos.

**Figura 9-** Estrutura química da JR19



Fonte: adaptado de Wanderley et al., 2019.

## REFERENCIAL BIBLIOGRÁFICO

ALMEIDA, L. A. **Membrana de quitosana incorporada com extrato de uva jacquez para tratamento de feridas cutâneas**. 93 f. Dissertação (Mestrado em Ciência e Engenharia de Materiais). Universidade Federal de Alfenas, Alfenas, 2017.

APOLINÁRIO, N. M. **Elucidação estrutural e avaliação do potencial biológico de novos derivados N-acilhidrazônicos**. 2016. 114p. Dissertação (Mestrado em Ciências Farmacêuticas) – Centro de Ciências Biológicas e da Saúde, Universidade Estadual da Paraíba, Campina Grande, 2016.

AZIZI SAMIR, A. S.; ALLOIN, F.; DUFRESNE, A. Review of recent research into cellulosic whiskers, their properties and their application in nanocomposite field. **Biomacromolecules**, 2006, 612-626.

BARATIERI, T.; SANGALETI, C. T.; TRINCAUS, M. R. Conhecimento de acadêmicos de enfermagem sobre avaliação e tratamento de feridas. **Revista de Enfermagem e Atenção à Saúde**, Uberaba, v. 4, n.1, p. 2-15, 2015.

BARREIRO, E. J.; FRAGA, C. A. M. Química Medicinal: As bases moleculares da ação dos fármacos. São Paulo: **Artmed**, 2009.

BARREIRO, E. J.; FRAGA, C. A. M.; MIRANDA, A. L. P.; RODRIGUES, C. R. A química medicinal de novos de N-acilidrazonas: novos compostos-protótipos de fármacos analgésicos, antiinflamatórios e anti-trombóticos. **Química Nova**, São Paulo, v. 25, n. 1, p.129-148, 2002.

BLANCK, M.; GIANNINI, T. Úlceras e feridas - as feridas tem alma: uma abordagem interdisciplinar do plano de cuidados e da reconstrução estética, 2014.

BOULAIS, N.; PEREIRA, U.; LEBONVALLET, N.; GOBIN, E.; DORANGE, G.; ROUGIER, N.; CHESNE, C.; MISERY, L. Merkel Cells as Putative Regulatory Cells in Skin Disorders: An In Vitro Study. **Plos one**. San Francisco, v. 4, n. 8, p. 1-9, 2009.

CAMPOS, A. C. L.; BORGES-BRANCO, A.; GROTH, A. K. Cicatrização de feridas. **Arquivos Brasileiros de Cirurgia Digestivas**, São Paulo, v. 20, n. 1, p. 51-58, 2007.

CASTRO, R. A. **Avaliação do potencial analgésico e anti-inflamatório do composto pirazólico 1,5-difenil-3-hidrazinopirazol (a)**. 2011. 93 f. Dissertação (Mestrado em Medicina Veterinária). Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro, 2011.

CERQUEIRA, D. A. Caracterização de acetato de celulose obtido a partir do bagaço de cana-de-açúcar por <sup>1</sup>H-RMN. **Polímeros: Ciência e Tecnologia**, 20.2: 85-91, 2010.

CHOPADE, A. R.; MULLA, W. A. Novel strategies for the treatment of inflammatory hyperalgesia. **European Journal of Clinical Pharmacology**, Edelberga, v. 66, p. 429-444, 2010.

CHIACCHIO, F. P. B.; MESQUITA, A. S.; SANTOS, J. R. Palma forrageira: uma oportunidade econômica ainda desperdiçada para o semi-árido baiano. **Bahia Agrícola**, Salvador, v. 7, n. 3, p. 39-49. 2006.

COSTA, E. R. R. Lipodistrofia ginóide: tratamento da celulite. 1. ed. Rio de Janeiro: **Thieme Revinter**, 2009.

COSTA, M. M. **Síntese de azinas assistida por micro-ondas e avaliação da atividade anticolinesterásica**. 2015. 147 f. Dissertação (Mestrado em Ciências Moleculares). Universidade Estadual de Goiás, Anápolis, 2015.

CRUZ, A. C. Utilização do acetato de celulose produzido a partir da celulose extraída do caroço de manga como matriz para produção de sistemas microparticulados. **Química Nova**, 2011, 34.3: 385-389.

DEVI, N.; DUTTA, J. Preparation and characterization of chitosan bentonite nanocomposite films for wound healing application. **International Journal of Biological Macromolecules**, New York, v. 104, p. 1897-1904, 2017.

DOHERTY, W. O.; MOUSAVIOUN, P.; FELLOWS, C. M. Value-adding to cellulosic ethanol: Lignin polymers. **Industrial Crops and Products**, New York, v. 33, n. 2, p. 259–276, 2011.

DUARTE, L. C. **Desenvolvimento de película biocompatível para cicatrização de feridas**. 2018. 72 f. Tese (Doutorado em Biotecnologia e Biodiversidade) – Faculdade de Ciências Biológicas e Ambientais, Universidade Federal da Grande Dourados, Dourados, MS, 2018.

EDGAR, K. J. Cellulose esters in drug delivery. **Cellulose**, London, v. 14, n. 1, p. 49-64, 2007.

EDGAR, K. J.; BUCHANAN, C. M.; DEBENHAM, J. S.; RUNDQUIST, P. A.; SEILER, B. D.; SHELTON, M. C. Advances in cellulose ester performance and application. **Progress in Polymer Science**, New York, v. 26, n. 9, p. 1605–1688, 2001.

EDGAR, Kevin J., et al. Advances in cellulose ester performance and application. **Progress in polymer science**, 2001, 26.9: 1605-1688.

EULÁLIO, E. J. C. **Membranas de quitosana e quercetina para aplicação em ulcerações epiteliais: desenvolvimento e caracterização**. 158 p. Tese (Doutorado em Engenharia de Processos). Universidade Federal de Campina Grande, Campina Grande, 2016.

EVANGELISTA, R. C. **Sistemas de liberação controlada de fármacos**. 2006. 345 f. Tese (Livre Docência em Farmacotécnica). Faculdade de Ciências Farmacêuticas, Universidade Estadual Paulista, Araraquara, 2006.

FELTON, L. A. Mechanisms of polymeric film formation. **International journal of pharmaceutics**, 457.2: 423-427, 2013.

FERREIRA JÚNIOR, M. F. Reciclagem química do bagaço de cana-de-açúcar para a produção de membranas assimétricas de diacetato de celulose. 2009.

FORTES, T. M. L.; SUFFREDIN, I. B. Avaliação de pele em idoso: uma revisão da literatura. **Journal of the Health Sciences Institute**. v. 32, n.1, p. 94-101, 2014.

FRANCISCHETTI, I.; MORENO, J. B.; SCHOLZ, M.; YOSHIDA, S. M. Os leucócitos e a resposta inflamatória na lesão de isquemia-reperfusão. **Revista Brasileira de Cirurgia Cardiovascular**, São Paulo, v. 25, n.4, p.575-584, 2010.

GALVÃO JÚNIOR, J. G. B. Palma forrageira na alimentação de ruminantes: cultivo e utilização. **Acta Veterinaria Brasilica**, v. 8, n. 2, p. 78-85, 2014.

GEORGE, B.; SUCHITHRA, T. V. Plant-derived bioadhesives for wound dressing and drug delivery system. **Fitoterapia**, 2019.

GOODMAN, S. L.; GILMAN, G. A. **Manual de farmacologia e terapêutica de Goodman e Gilman**. 2. ed. Porto Alegre: AMGH, 1204 p, 2015.

GUIMARÃES, D. G.; ROLIM, L. A.; GONSALVES, A. A.; ARAÚJO, C. R. M. Investigação do Potencial Biológico de Hidrazonas Obtidas Sinteticamente na Última Década (2006-2016): Uma Revisão Sistemática. **Revista Virtual Química**, Niterói, v. 9, n. 6, p. 2551-2592, 2017.

GUIRRO, E.; GUIRRO, R. Fisioterapia Dermato-Funcional: fundamentos, recursos e patologias. 3. ed. São Paulo, 2004.

HARRIS, M. I. **Pele: do nascimento à maturidade**. 1. ed. São Paulo: Senac, 2018.

HERNÁNDEZ, P.; ROJAS, R.; GILMAN, R. H.; SAUVAIN, M.; LIMA, L. M.; BARREIRO, E. J.; GONZÁLEZ, M.; CERECETTO, H. Hybrid furoxanyl *N*-acylhydrazone derivatives as hits for the development of neglected diseases drug candidates. **European Journal of Medicinal Chemistry**, Paris, v. 7, n. 59, p. 64-74. 2013.

HIRAO, T. Chapter 40 - Structure and Function of Skin From a Cosmetic Aspect. **Cosmetic Science and Technology: Theoretical Principles and Applications**, Amsterdam, p. 673-683, 2017.

HOSNY, N. M.; EL MORSY, E. S. A.; SHERIF, Y. E. Synthesis, spectral, optical and anti-inflammatory activity of complexes derived from 2-aminobenzohydrazide with some rare earths. **Journal of Rare Earths**, Amsterdam, v. 33, n. 7, p. 758-764, 2015.

ISAAC, C. Processo de cura das feridas: cicatrização fisiológica. **Revista de Medicina**, v. 89, n. 3-4, p. 125-131, 2010.

JARCZYK-JEDRYKA, A.; FILAPEK, M.; MALECKI, G.; KULA, S.; JANECZEK, H. BOHAREWICZ, B.; IWAN, A.; SCHAB-BALCERZAK, E. Symmetrical *N*-acylsubstituted dihydrazones containing bithiophene core-Photophysical, electrochemical and thermal characterization. **Spectrochimica Acta Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy**, New York, v. 159, p. 169-176, 2016.

JUNQUEIRA, L. C.; CARNEIRO, J. **Histologia Básica: texto e atlas**. 13. ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2017.

KATHE, K.; KATHPALIA, H. Film forming systems for topical and transdermal drug delivery. **Asian Journal of Pharmaceutical Sciences**, v. 12, n. 6, p. 487-497, 2017.

KARKI, S.; KIM, H.; NA, S. J.; SHIN, D.; JO, K.; LEE, J. Thin films as an emerging platform for drug delivery. **Asian Journal Of Pharmaceutical Sciences**, 11(5), 559-574, 2016.

KIM, D. Y.; Ryu, S. Y.; LIM, J. E.; LEE, Y. S. e RO, J. Y. Anti-inflammatory mechanism of simvastatin in mouse allergic asthma model. **European Journal of Pharmacology**, v.557, n.1, p.76-86. 2007.

KHAN, S. A.; BANK, J.; SONG, D. H.; CHOI, E. A. The Skin and Subcutaneous Tissue. 1–40, 2018.

KLEMM, Dieter, et al. Cellulose: fascinating biopolymer and sustainable raw material. **Angewandte chemie international edition**, 44.22: 3358-3393, 2005.

LAUREANO, A.; RODRIGUES, A. M. Cicatrização de feridas. **Revista da Sociedade Portuguesa de Dermatologia e Venereologia**, p. 355-367, 2011.

LAVOINE, N.; DESLOGES, I.; DUFRESNE, A.; BRAS, J. Microfibrillated cellulose - its barrier properties and applications in cellulosic materials: a review. **Carbohydrate Polymers**, Barking, v. 90, n. 2, p. 735–764, 2012.

LAZZARINI, C.; HARANAHALLI, F.; RIEGER, R.; ANANTHULA, H. K.; DESAI, P. B.; ASHBAUGH, A.; LINKE, M. J.; CUSHION, M. T.; RUZSICKA, B.; HALEY, J.; OJIMA, I.; DEL POETA, M. Acylhydrazones as Antifungal Agents Targeting the Synthesis of Fungal **Sphingolipids**. **Antimicrobial Agents and Chemotherapy**, Washington, v. 62, 2018.

LIMA R.O.L.; RABELO E.R.; MOURA V.M.B.D.; SILVA L.A.F.; TRESVENZOL L.M.F. Cicatrização de feridas cutâneas e métodos de avaliação. Revisão de literatura. **Revista CFMV**. 56:53-59, 2012.

LIMA, L. M.; BARREIRO, E. J. Bioisosterism: a useful strategy for molecular modification and drug design. **Current Medicinal Chemistry**, Hilversum, v. 12, n. 1, p. 23-49, 2005.

LINO, M. E. S.; RUELA, A. L. M.; TREVISAN, M. G.; PEREIRA, G. R. Influence of hydration and crosslinking in transdermal delivery of nicotine from chitosan-based gels by thermal analysis. **Journal of Thermal Analysis and Calorimetry**, [São Paulo], v. 130, n. 3, p. 1455-1461, 2017.

MAIA, R. C.; TESCH, R.; FRAGA, C. A. M. Acylhydrazone derivatives: a patente review. **Expert Opinion on Therapeutic Patents**, Londres, v. 24, n. 11, p. 1161-1170, 2017.

MALHEIROS, J. P. T. **Síntese, caracterização e aplicação do acetato de celulose a partir da palma forrafeira (*Opuntia ficus-indica* (L.) Miller) para liberação controlada de fármacos**. 2014, 119f. Dissertação (Mestrado em Ciências Farmacêuticas) – Centro de Ciências Biológicas e da Saúde, Universidade Estadual da Paraíba, Campina Grande, 2014.

MARTINS, S. C. **Avaliação do potencial biológico de *Opuntia ficus-indica* (Figueira da Índia)**. 2011. 67 f. Dissertação (Mestrado em Ciências Farmacêuticas) - Faculdade de Ciências da Saúde, Universidade Fernando Pessoa, Porto, 2011.

MEIRA, C.S.; FILHO, J.M.S.; SOUSA, C.C.; ANJOS, P.S.; CERQUEIRA, J.V.; NETO, H.A.D.; SILVEIRA, R.G.; RUSSO, H.M.; WOLFENDER, J.L.; QUEIROZ, E.F.; MOREIRA, D.R.M.; SOARES, M.B.P. Structural design, synthesis and substituent effect of hydrazone-*N*-acylhydrazones reveal potent immunomodulatory agents. **Bioorganic & Medicinal Chemistry**, New York, v. 26, n. 8, p. 1971-1985, 2018.

MITCHELL, K.; ABBAS, F. A. **Robbins & Cotran – Fundamentos de Patologia**. 8. ed. Rio de Janeiro: Elsevier, 2012.

MOTA, F. V. B. **Estudo das atividades anti-inflamatória e antinociceptiva de novos derivados isoxazolinaacilhidrazonas**. 2013. 98 f. Dissertação (Mestrado em Inovação Terapêutica). Universidade Federal de Pernambuco, Recife, 2013.

MORAES, A. D. T. O.; MIRANDA, M. D. S.; JACOB, I. T. T.; AMORIM, C. A. C.; MOURA, R. O. M.; SILVA, S. A. S.; SOARES, M. B. P.; ALMEIDA, S. M. V.; SOUZA, T. R. C. L.; OLIVEIRA, J. F.; SILVA, T. G.; MELO, C. M. L.; MOREIRA, D. R. M.; LIMA, M. C. A. L. Synthesis and *in vivo* biological evaluation, COX-1/2 inhibition and molecular docking study of indole-*N*-acylhydrazone derivatives. **Bioorganic & Medicinal Chemistry**, Oxford, 2018.

MOURA, L. I. F.; DIAS, A. M. A.; CARVALHO, E.; SOUSA, H. C. Recent advances on the development of wound dressings for diabetic foot ulcer treatment- a review. **Acta Biomaterialia**, Amsterdam, v. 9, n. 7, p. 7093-7114, 2013.

NATASĂ, C.; TIPERCIUC, B.; DURMA, M.; BENEDEC, D.; ONIGA, O. New Hydrazones Bearing Thiazole Scaffold: Synthesis, Characterization, Antimicrobial, and Antioxidant Investigation. **Molecules**, Farmington Hills, v. 20, p. 17325-17338, 2015.

NETO, A. B. T. **Estudo da pré-hidrolise ácida da palma forrafeira (*Opuntia ficus-indica* (L.) Miller)**. 2009. 47f. Dissertação (Mestrado em Engenharia Agrícola)- Universidade Federal de Campina Grande, Campina Grande, 2009.

OLIVEIRA, I. V. P. Cicatrização de feridas: fases e fatores de influência. **Acta Veterinaria Brasileira**, v. 6, n. 4, p. 267-271, 2012.

PAGANELA, J.C.; RIBAS L. M.; SANTOS C. A.; FEIJÓ L. S.; NOGUEIRA C. E. W.; FERNANDES C. G. Abordagem clínica de feridas cutâneas em equinos. **RPCV**. 104(569-572):13-18, 2009.

PARRILHA, G. L. **Complexos metálicos de hidrazonas, tiossemicarbazonas e lapachol: atividades farmacológicas e relações de estrutura-atividade**. 2012. 154 f. Tese (Doutorado em Química). Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte, 2012.

PECONICK, A. P.; KALKS, K. H. M. **Resposta inflamatória aguda sob a ótica imunológica**. Universidade Federal de Lavras, Lavras, 2011. 23 p.

QUEIROZ, A. C. C. M.; MOTA, D. D. C. F.; BACHION, M. M.; FERREIRA, A. C. M. Úlceras por pressão em pacientes em cuidados paliativos domiciliares: prevalência e características. **Revista da Escola de Enfermagem da USP**, São Paulo, v. 48, n. 2, p. 64-71, 2014.

- RABELO, S. C. **Avaliação do desempenho de pré-tratamento com peróxido de hidrogênio alcalino para a hidrólise enzimática do bagaço de cana-de-açúcar.** Campinas, 2007. Dissertação de mestrado, Campinas, Faculdade de Engenharia Química, Universidade Estadual de Campinas, 2007.
- REPICH, H. H.; ORYSYK, S. I.; ORYSYKY, V. V.; ZBOROVSKII, Y. U. L.; PEKHNYO, V. I.; VOVK, M. V. Synthesis, crystal structure and spectral characterization of the first Ag<sup>+</sup> complex compounds involving O,N,O-coordinated N-acylhydrazones of salicylaldehyde. **Journal of Molecular Structure**, Amsterdam, v. 1144, p. 225-236, 2017.
- RESTANI, R. B.; CORREIA, V. G.; BONIFÁCIO, V. D.; AGUIAR, R. A. Development of functional mesoporous microparticles for controlled drug delivery. **The Journal of Supercritical Fluids**, New York, v. 55, n. 1, p. 333-339, 2010.
- RIBEIRO, E. A. M. Síntese, caracterização e aplicação de membranas de acetato de celulose a partir da reciclagem da palha de milho em processo de ultrafiltração. 2013.
- ROGOLINO, D.; CARCELLI, M.; BACCHI, A.; COMPARI, C.; CONTARDI, L.; FISICARO, E.; GATTI, A.; SECHI, M.; STEVAERT, A.; NAESENS, L. A versatile salicyl hydrazonic ligand and its metal complexes as antiviral agents. **Journal of Inorganic Biochemistry**, New York, v. 150, 9-17, 2015.
- RODRIGUES, D. A.; FERREIRA-SILVA, G. A.; FERREIRA, A. C. S.; FERNANDES, R. A.; KWEE, J. K.; SANT'ANNA, C. M. R.; LONTA, M.; FRAGA, C. A. M. Design, Synthesis, and Pharmacological Evaluation of Novel *N*-Acyldiazone Derivatives as Potent Histone Deacetylase 6/8 Dual Inhibitors. **Journal Medicinal Chemistry**, [Paris], v. 59, p. 655-670, 2016.
- ROLLAS, S.; KÜÇÜKGÜZEL, S. G. Biological Activities of Hydrazone Derivatives. **Molecules**, Farmington Hills, v. 12, p. 1910-1939, 2007, 2007.
- SANTOS, M. V. F.; FERREIRA, M. A.; BATISTA, A. M.V. Valor nutritivo e utilização da palma forrageira na alimentação de ruminantes. **In. A Palma no nordeste do Brasil. Conhecimento atual e novas perspectivas de uso.** Recife. Editora Universitária da UFPE. p. 143-162, 2005.
- SANTOS, T. C. C. **Spray de quitosana na cicatrização de feridas cutâneas em ratas diabéticas.** 63 f. Dissertação (Mestrado em Ciência animal), Universidade Federal de Goiás, Goiânia, 2016.
- SERAFIM, R. A. M.; GONÇALVES, J. E.; SOUZA, F. P.; LOUREIRO, A. P. M.; STORPIRTIS, S.; KROGH, R.; ANDRICOPULO, A. D.; DIAS, L. C.; FERREIRA, E. L. Design, synthesis and biological evaluation of hybrid bioisoster derivatives of *N*-acylhydrazone and furoxan groups with potential and selective anti-*Trypanosoma cruzi* activity. **European Journal of Medicinal Chemistry**, Paris, v. 82, p. 418-425, 2014.
- SHIMIZU T. Role of macrophage migration inhibitory factor (MIF) in the skin. **Journal of Dermatological Science**. 37:65-73, 2005.

SILVA, Natan. **Filmes poliméricos de quitosana com sinvastatina para inflamações cutâneas**. 2015. 108f. Dissertação (Mestrado em Ciências Farmacêuticas) – Centro de Ciências Biológicas e da Saúde, Universidade Estadual da Paraíba, Campina Grande, 2015.

SILVA, N. **Produtividade, morfologia e acúmulo de nutrientes da palma forrageira sob doses de adubação orgânica e densidade de plantio**. 2012. 97f. Tese (Doutorado Integrado em Zootecnia)- Universidade Federal Rural do Pernambuco, Universidade Federal do Ceará, Universidade Federal da Paraíba. Recife, 2012.

SILVA NETO, J. M. **Isolamento das frações celulósicas e hemicelulósicas do bagaço do sorgo sacarino (*Sorghum bicolor* (L.) Moench) e síntese de acetato de celulose**. Dissertação (Mestrado em Engenharia Química) – Universidade Federal de Campina Grande, Centro de Ciências e Tecnologia, 2018.

SILVA, S. C. **Caracterização farmacológica pré-clínica da atividade anti-inflamatória de novos derivados N-acilhidrazônicos**. 2015. 87 f. Dissertação (Mestrado). Universidade Federal de Pernambuco, Recife, 2015.

SILVA, J.A.; BEDOR, D.C.G.; DAMASCENO, B.P.G.L.; OLIVEIRA, A.G.; EGITO, E.S.T.; SANTANA, D.P. Physicochemical characterization and development of a microemulsion system for transdermal use. **Journal of Dispersion Science and Technology**, [Philadelphia], v. 31, n. 1, p. 1-8, 2010.

SILVA, V. L. D. **Aproveitamento sustentável do bagaço de cana de açúcar para obtenção do acetato de celulose**. Master's thesis, Universidade Federal do Rio Grande do Norte, 2014.  
SILVA, R. A.; ZAMBUZZI, W. F. Queratinócitos e seus desafios : uma revisão da literatura sobre mecanismos intracelulares. **Saúde em Revisão**. 13, 3–14, 2013.

SILVA, C. D.; SANTOS, L. C. Palma forrageira (*Opuntia ficus-indica* Mill) como alternativa na alimentação de ruminantes. **Revista Eletrônica de Veterinária**, [Malaga], v. 7, n. 10, p. 1-13, 2006.

SZWED, D. N.; SANTOS, V. L. P. Fatores de crescimento envolvidos na cicatrização de pele. **Cadernos da Escola de Saúde**, Tarumã v. 1, n. 15, p. 7-17, 2016.

TAZIMA, M. F. G. S; ANDRADE, Y. A. D. M. V; MORIYA, T. Biologia da ferida e cicatrização. **Medicina Ribeirão Preto Online**, 41(3), 259-264, 2008.

WANDERLEY, D. M. S. **Filmes poliméricos de quitosana com um derivados N-acilhidrazônico para tratar lesões cutâneas**. 2019 95p. Dissertação (Mestrado em Ciências Farmacêuticas) – Centro de Ciências Biológicas e da Saúde, Universidade Estadual da Paraíba, Campina Grande, 2019.

WANDERLEY, D. M.; MELO, D. F.; SILVA, L. M.; SILVA, W. C.; CORREIA, L. P.; OSHIRO-JUNIOR, J. A.; FOOK, M. V. L.; MOURA, R. O.; LIMA, R. S. C.; DAMASCENO, B. P. G. L. Physical–chemical characterization of N-acylhydrazone derivative chitosan films using spectroscopic and thermoanalytical techniques. **Journal of Thermal Analysis and Calorimetry**, 1-8, 2019.

WERMUTH, C. G.; GANELLIN, C. R.; LINDBERG, P.; MITSCHER, L. A. Glossary of terms in Medicinal Chemistry. **Pure and Applied Chemistry**, 3. ed. v. 70, n. 5, p. 1129-1143, 2008.

WIEGAND, C.; HIPLER, U. Polymer-based biomaterials as dressings for chronic stagnating wounds. **Macromolecular Symposia**, Weinheim, v. 294, n. 2, p. 1-13, 2010.

WILGUS, T. A. Immune cells in the healing skin wound: Influential players at each stage of repair. **Pharmacology Research**, [New York], v. 58, p. 112-116, 2008.

YU, L.; DEAN, K.; LI, L. Polymer blends and composites from renewable resources. **Progress in Polymer Science**, New York, v. 31, n. 6, p. 576-602, 2006.

**CAPÍTULO I. EXTRAÇÃO DE CELULOSE DA PALMA  
FORRAGEIRA (*Nopalea cochenilifera* (L.) SALM-DYCK)  
PARA SÍNTESE E CARACTERIZAÇÃO DE ACETATO  
DE CELULOSE**

## Capítulo I- Extração de celulose da palma forrageira (*Nopalea cochenilifera* (L.) Salm-Dyck) para síntese e caracterização de acetato de celulose

### 1. INTRODUÇÃO

O semiárido brasileiro trata-se de uma região com área superior a 1.000.000 Km<sup>2</sup>, sendo habitada por cerca de 21 milhões de pessoas e caracterizada por apresentar limitações hídricas devido a uma má distribuição física e temporal das chuvas (PESSOA *et al.* 2013). O desenvolvimento bem sucedido da pecuária nesta região se deve em parte ao cultivo de gramíneas de corte e de forrageiras, como a palma forrageira, que são culturas estratégicas já que possuem mecanismos fisiológicos que lhes permite maior produtividade, com pouca exigência de água (MALHEIRO, 2014; VILA NOVA, 2018).

A palma forrageira, *Nopalea cochenilifera*, é uma planta tropical ou subtropical que pertence à família das cactáceas que são cultivadas em regiões áridas e semiáridas de todo o mundo graças a seus mecanismos adaptativos que permitem crescer e se desenvolver mesmo em condições adversas de solo, temperatura, disponibilidade de água e de nutrientes (GALVÃO JÚNIOR, 2014). Apesar do seu enorme potencial produtivo e suas múltiplas utilidades, tais como: na alimentação humana, na produção de medicamentos, cosméticos e corantes, na conservação e recuperação de solos, na fabricação de adesivos, colas, fibras para artesanato, papel, corantes e mucilagem; que revelam a versatilidade dessa espécie vegetal, a palma não tem sua potencialidade explorada plenamente. Em consequência, vêm sendo desperdiçadas excelentes oportunidades para melhoria dos índices sociais e econômicos da população sertaneja, mediante a geração de postos de trabalho, renda e preservação ambiental (CHIACCHIO *et al.*, 2006).

A FAO (Food and Agriculture Organization of the United Nations) orienta que seja reconhecido o papel social da Palma nas áreas em que esta seja produzida, com o delineamento de políticas públicas com a finalidade de auxiliar as associações com intuito de melhorar a produtividade e gere inovações, para que desta forma se possa agregar valor econômico à matéria prima vegetal, com o objetivo de aumentar o nível de competitividade de economia e o bem-estar das pessoas que habitam nestes territórios (FAO, 2017). Com isso, uma importante associação desse tipo de cultura com a produção de química fina, como a extração de celulose e de outras substâncias dessas plantas, é um importante passo para o desenvolvimento da região, pois os polímeros extraídos podem ser utilizados pela indústria

farmacêutica como excipientes para a produção de sistemas de liberação controlada como os filmes poliméricos.

Apesar de muitos sistemas poliméricos poderem ser utilizados na preparação de formas farmacêuticas de liberação modificada, os polímeros hidrodispersíveis, como os ésteres da celulose, estão entre os grupos mais frequentemente empregados nestes tipos de formulações. Os ésteres de celulose, particularmente o acetato de celulose, têm assumido um papel vital na produção de matrizes para liberação controlada de fármacos (filmes resistentes e micro/nanopartículas, por exemplo) devido a propriedades essenciais como: baixa toxicidade, boa estabilidade, elevada permeação a água, elevada temperatura de transição vítrea (Tg) e compatibilidade com uma série de agentes ativos (EDGAR, 2007). O acetato é produzido a partir de uma reação de acetilação da celulose e um dos aspectos de maior importância na sua produção é o material de partida empregado. Na produção do acetato de celulose em escala industrial é utilizada polpa celulósica da madeira de elevada pureza. Entretanto, a celulose também tem sido obtida a partir de outras fontes, como: bagaço de cana de açúcar, sabugo de milho, palha de arroz e caroço de manga (CRUZ *et al.*, 2011).

Devido à pronta disponibilidade da *Nopalea cochenilifera* na região da caatinga e do cerrado no Brasil e ao crescente interesse pela celulose e seus derivados, como o acetato de celulose, este trabalho tem como objetivo sintetizar, identificar e caracterizar o acetato de celulose obtido a partir da celulose extraída da *Nopalea cochenilifera*, que pode ser usado como alternativa para excipiente farmacêutico e fabricação de biomateriais.

## 2. MATERIAL E MÉTODOS

### 2.1 Caracterização da palma forrageira *Nopalea cochenilifera* (L.) Salm-Dyck

#### 2.1.1 Matériel

- Álcool etílico absoluto (99,3%) P.A, obtido da F. Maia Ind. e Comércio Ltda (Brazil);
- Ácido nítrico 65% P.A. adquirido da Neon comercial Ltda (Brazil);
- Hidróxido de sódio e Hidróxido de potássio adquiridos da Vetec Chemical (Brazil) e ácido acético e clorito de sódio obtidos da Sigma Chemical Co. (USA).

#### 2.1.2 Matéria prima vegetal

Amostras da *Nopalea cochenilifera* (L.) Salm-Dyck, foram coletadas no período da manhã na estação experimental do Instituto Nacional do Semiárido (INSA), cujas coordenadas geográficas da área de plantação são 7°16'41''S; 35°57'59''W pertencente à Fazenda Lagoa Bonita (470 m de altitude) - Campina Grande/ PB. Os cladódios (partes aéreas da planta) foram devidamente lavados com água corrente, seccionados e desidratados em estufa de circulação de ar (TE394/4 MP, TECNAL, São Paulo - Brasil), sob temperatura controlada de 60 °C por sete dias, até observar peso constante. O material foi triturado em moinho (EDB-5, DeLeo –Willey, Porto Alegre- RS/ BRASIL), de quatro navalhas fixas e quatro móveis, acoplado a uma peneira de malha 20 mm de diâmetro. A pulverização foi feita nos laboratórios experimentais do Instituto Nacional do Semiárido (INSA) e as demais etapas de processamento foram realizadas no Laboratório de Desenvolvimento e Caracterização de Produtos Farmacêuticos (LDCPF).

#### 2.1.3 Purificação da palma forrageira

A metodologia utilizada para purificação da palma forrageira bruta foi o método etanol/ácido nítrico modificado, descrito por Rodrigues-Filho et al. (2000), e se baseia na oxidação da lignina pelo ácido nítrico. A etapa inicial de extração da celulose consistiu na lavagem, secagem e trituração da palma forrageira, uniformizando o tamanho das partículas

através de tamisação do material triturado em jogo de tamises com agitação. Portanto, após a lavagem com detergente neutro, a palma forrageira foi colocada em refluxo com três porções sucessivas de uma mistura 20% v/v de ácido nítrico e etanol. A cada hora a mistura reacional foi trocada e o material lavado com água destilada. Após 3 horas de refluxo a mistura foi filtrada e lavada com água destilada até que a solução da lavagem apresentou-se incolor. Em seguida o material foi colocado em uma solução de NaOH 1mol/L<sup>-1</sup> por 24 horas, após este período a mistura foi novamente lavada e neutralizada com uma solução de ácido acético 10%. A palma forrageira foi colocada para secar em estufa a 105°C durante 3 horas. Depois de seco, foi triturado em um moinho.

#### 2.1.4 Obtenção da holocelulose

A holocelulose é o produto resultante da extração da lignina e é constituída por celulose e hemicelulose. Este processo de deslignificação utiliza o clorito de sódio e está baseado na reação entre lignina e ClO<sub>2</sub>, ClO<sup>-</sup>, produtos estes formados em reações redox de ClO<sub>2</sub><sup>-</sup> em meio ácido segundo a reação abaixo.



O procedimento para obtenção da holocelulose foi o seguinte: 5,0g da palma forrageira bruta foram colocados em um balão e adicionados de 100 mL de água destilada. O balão foi colocado em banho-maria a 75 °C e adicionado de 2,0 mL de ácido acético e 3,0g de clorito de sódio (o balão foi mantido hermeticamente fechado para evitar a perda do gás produzido na reação). Após 1 hora, foi adicionado novamente 2,0 mL de ácido acético e 3,0g de clorito de sódio. Esse processo foi devidamente repetido por mais duas vezes. A mistura foi resfriada a 10°C, filtrada em funil de placa porosa, previamente tarado, e lavada com água destilada a 5°C até que o resíduo fibroso apresentasse coloração esbranquiçada. O funil com o resíduo fibroso foi seco em estufa a 105°C por 6 horas, resfriado em dessecador (RODRIGUES-FILHO et al., 2007).

#### 2.1.5 Obtenção da celulose

A celulose distingue-se analiticamente das hemiceluloses pela sua insolubilidade em soluções alcalinas aquosas. A extração sucessiva da holocelulose (preparada pelo método do clorito ácido) com hidróxido de potássio 5 e 24% resulta em valores que, somados, representam a fração de hemiceluloses. Assim, a fração de hemiceluloses solubilizada pelo

hidróxido de potássio 5% é designada hemicelulose A, a fração solubilizada pelo hidróxido de potássio 24% é designada hemicelulose B e o resíduo fibroso após as duas extrações é designado celulose. O procedimento para obtenção da quantidade de celulose deu-se da seguinte forma: foram transferidos 3,0g de holocelulose para um erlenmeyer de 250 mL, foi adicionado 100 mL de solução de KOH (5%), sob uma atmosfera inerte pela passagem de gás nitrogênio, durante os cinco minutos iniciais da extração para evitar a oxidação da celulose. O erlenmeyer foi vedado e mantido em agitação constante por 2 horas. A mistura foi filtrada em funil de placa porosa, lavada com 50 mL de solução de KOH (5%) e, em seguida, com 100 mL de água destilada. O filtrado foi recolhido em um erlenmeyer de 1L e precipitado com uma solução de partes iguais de ácido acético e etanol (completando-se o volume do erlenmeyer), obtendo-se assim a hemicelulose A.

Assim como relata Rodrigues Filho et al. (2007), para a obtenção da hemicelulose B, o resíduo fibroso retido no funil foi transferido novamente para o erlenmeyer de 250 mL. O mesmo procedimento para a obtenção da hemicelulose A foi repetido utilizando solução de KOH (24 %). Para lavagem do resíduo fibroso retido no funil, foi utilizado 25 mL de solução de KOH (24%), 50 mL de água destilada, 25 mL de ácido acético (10%) e 100 mL de água destilada, respectivamente. O filtrado recolhido em erlenmeyer de 1L foi precipitado com uma solução de partes iguais de ácido acético e etanol (completando-se o volume do erlenmeyer), obtendo-se assim a hemicelulose B. Após a extração dos componentes solúveis em soluções aquosas de hidróxido de potássio, o resíduo fibroso foi lavado com água destilada até que o filtrado apresentasse pH neutro. O resíduo foi lavado com 50 mL de acetona, seco a 105°C e pesado. Esse resíduo foi denominado celulose.

## **2.2 Produção e caracterização do acetato de celulose**

### **2.2.1 Acetilação da celulose da palma forrageira**

A reação de acetilação foi realizada seguindo procedimento descrito em Cerqueira et al. (2007). Foi adicionado 25 mL de ácido acético glacial a 1,0g da palma forrageira sob agitação. O material foi deixado sob agitação por 30min em temperatura ambiente. Em seguida, foi adicionada uma solução contendo 0,08mL de H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> concentrado em 9,0 mL de ácido acético glacial, deixando o material sob agitação por 25 minutos em temperatura ambiente. Após este período, a mistura foi filtrada e ao filtrado foi adicionado 32 mL de

anidrido acético. Essa mistura foi agitada e retornou o filtrado ao frasco inicial com o material. A solução foi agitada por mais 30 minutos e deixada em repouso. Após 14 horas foi adicionada água destilada ao meio reacional até que não houvesse mais a formação de precipitado. A mistura foi filtrada lavando com água destilada e o material neutralizado com uma solução 10% de carbonato de sódio. O material foi seco em estufa por 90min a 105°C.

### 2.2.2 Determinação do grau de substituição do acetato de celulose

A determinação do grau de substituição (GS) foi realizada por uma reação de saponificação no qual foi adicionado 5,0mL de hidróxido de sódio 0,25mol/L e 5mL de etanol a 0,1g de acetato de celulose e deixou-se a mistura em repouso. Após 24 horas foi adicionado 10 mL de ácido clorídrico 0,25mol/L e foi deixado em repouso por mais 30 minutos, em seguida a solução foi titulada com hidróxido de sódio, utilizando-se o indicador fenolftaleína. Este procedimento foi feito em triplicata (RODRIGUES-FILHO et al., 2000) O grau de acetilação (%GA) foi calculado de acordo com a Equação 1.

$$\%GA = \frac{[(V_{bi}+V_{bt})\mu_b - (V_a.\mu_a)]M.100}{mAC} \quad (1)$$

Em que %GA é a porcentagem de grupos acetila,  $V_{bi}$  é o volume de hidróxido de sódio adicionado no início do processo,  $V_{bt}$  é o volume de hidróxido de sódio obtido na titulação,  $\mu_b$  é a molaridade do hidróxido de sódio,  $V_a$  é o volume de ácido clorídrico adicionado,  $\mu_a$  é a molaridade do ácido clorídrico,  $M$  é a massa molar dos grupos acetila e  $mAC$  é a massa de acetato utilizada.

Com o resultado obtido do %GA, o GS pode ser calculado a partir da Equação 2.

$$\%GS = \frac{162.\%GA}{M.100 - 42.\%GA} \quad (2)$$

## 2.3 Rendimento do acetato de celulose

O rendimento de acetato de celulose foi determinado pesando-se o material inicial (palma forrageira triturada e tamisada) e o produto final correspondente ao acetato de celulose purificado. Foi utilizado para isso balança analítica.

A Equação 3 foi usada para o cálculo do rendimento do acetato de celulose:

$$R(\%) = \frac{P_{final}}{P_{inicial}} \times 100 \quad (3)$$

Em que:

R(%) = rendimento em percentual;

P<sub>final</sub> = Peso final do polímero obtido;

P<sub>inicial</sub> = Peso inicial da palma forrageira triturada e tamisada.

## 2.4 Microscopia Óptica

A técnica de microscopia óptica (MO) foi realizada em um Microscópio Óptico digital, modelo KH7700 (Hirox<sup>®</sup>, Tóquio, Japão) de reflexão e transmissão com acessórios 3D e variação de 140X e 3500X, acoplado a uma estação de análise de imagens. As análises foram realizadas no Certbio da UEPB e consistiu em colocar as partículas de ACT em lâmina para analisar a imagem da sua projeção na tela de análise do microscópio.

## 2.5 Tamanho médio

O tamanho médio das partículas foi estimado por meio de microscopia óptica, após o preparo de lâmina microscópica as imagens foram coletadas e submetidas à contagem de 20 partículas em triplicata para cada preparação. O tamanho médio foi estimado através de análise estatística baseado nos valores convertidos para escala micrométrica utilizando o software Imaje J<sup>®</sup>.

## 2.6 Espectroscopia transformada no infravermelho com transformada de Forrier (FTIR) do polímero acetato de celulose

Esta análise foi realizada utilizando um espectrômetro Spectrum TM 400 FT-IR/FT-NIR (Perkin Elmer®, Boston, Massachusetts, EUA) com resolução de  $4\text{ cm}^{-1}$ , velocidade de varredura de  $0,2\text{ cm}^{-1}$  e varredura de  $4000$  a  $650\text{ cm}^{-1}$ . As análises foram realizadas no Certbio da Universidade Federal de Campina Grande (UFCG).

## **2.7 Difração de Raio- X (DRX)**

Foi utilizado um Difratorômetro de raios-X, modelo XRD-6000 (Shimadzu® Kyoto, Japão) com varredura angular  $5^\circ < 2\theta < 55^\circ$ , na montagem de Bragg-Brentano, sistema  $\theta$ - $2\theta$ , utilizando-se radiação de Cu ( $k\alpha_1$ ) com varredura no passo de  $0,02$  ( $2\theta$ ), com intervalo de  $0,6$  segundo para cada amostra. As análises foram realizadas no CETENE.

### 3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

#### 3.1 Processo de Extração a partir da Palma Forrageira (*Nopalea cochenilifera* (L.))

O processamento extrativo da droga vegetal à celulose foi acompanhado de forma visual através de modificações tanto na textura quanto na cor dos produtos obtidos em cada etapa, como demonstrado na figura 10.

**Figura 10-** Etapas do processo de extração a partir da Palma Forrageira; **A-** Vegetal seco e triturado; **B-** pó do vegetal livre de extrativos; **C-** holocelulose; **D-** celulose.



Fonte: Dados da pesquisa

A molécula de celulose apresenta uma estrutura linear, constituída por longas redes intramoleculares e intermoleculares de pontes de hidrogênio, que se ligam às moléculas de glicose. São essas ligações intramoleculares as responsáveis pela rigidez e, as intermoleculares responsáveis pela formação da estrutura molecular. Devido a essas características estruturais e ao fato de haver um envoltório de lignina que a molécula de celulose apresenta resistência a sofrer hidrólise, sendo este, portanto, um desafio para a utilização dos materiais lignocelulósicos nas mais diversas aplicações, havendo a necessidade da retirada desse envoltório (SILVA NETO, 2018).

Nas imagens acima é possível notar o processo de branqueamento e de purificação, onde de “A” para “B” tem-se a retirada das frações solúveis através de uma mistura de etanol/ácido nítrico (80/20 v/v), posteriormente o resíduo foi mantido em contato com hidróxido de sódio (NaOH). Esta primeira etapa, trata-se de um pré-tratamento, cuja finalidade é promover modificações no material lignocelulósico, aumentando a acessibilidade à separação das frações. Ao utilizar um pré-tratamento ácido com o emprego de ácido nítrico, possibilitamos a desestruturação da parede vegetal da biomassa, em especial, celulose, hemicelulose e lignina. Além disso, o hidróxido posteriormente utilizado tem como intuito

remover parte da lignina, assim como promover o branqueamento por eliminação dos grupos cromofóricos da lignina (SILVA NETO, 2018; ANTUNES et al. 2014; FRIGIERI, 2016).

De “B” para “C”, tem-se a eliminação das ligninas insolúveis em ácido através de uma reação que faz uso de clorito de sódio e ácido acético. Obtendo-se essencialmente a holocelulose, que é constituída por frações de hemicelulose e celulose. A utilização de ácido acético nesta etapa tem como intuito a solubilização da fração hemicelulósica, tornando a celulose mais acessível e, posteriormente a eliminação através do uso de hidróxido de potássio 24% e ácido acético a 1%, de “C” para “D” onde há o isolamento da celulose (FILHO, 2014).

A molécula de celulose apresenta três grupos hidroxila por cada molécula de D-Glucose, existindo a possibilidade de promover uma modificação da sua estrutura nesses grupos hidroxilas, através de reações de adição, substituição, nitratação acetilação, esterificação e oxidação (SILVA NETO, 2018).

### **3.2 Rendimento do processo de extração**

O rendimento do processo de extração da celulose, a partir da droga vegetal, foi de  $8,4 \pm 0,5\%$ , sendo, portanto inferior ao teor de celulose estimado para a espécie (cerca de 21%) e aos percentuais obtidos por Filho (2014) de 31,55% e Santos (2012), que obteve de 13,66% a 26,90%. No entanto, foram utilizadas metodologias distintas para estimar o teor de celulose, assim como no estudo desenvolvido por Filho (2014) e Santos (2012) fez-se uso de pré-tratamentos com a finalidade de se aumentar o teor de celulose obtido nos resultados finais, já que a palma apresenta baixo teor de fibra e alta concentração de carboidratos solúveis, o que implica consequentemente em menor teor de celulose e hemicelulose quando comparado com outros materiais lignocelulósicos (MALAININE et al. 2003).

### **3.3 Produção e caracterização do acetato de celulose**

O acetato de celulose é produzido através da substituição dos grupos hidroxila nas unidades de anidrogucose por grupos acetila, onde pode-se caracterizá-lo de acordo com o grau de substituição (GS). Sendo um parâmetro que pode afetar a cristalinidade do polímero, influenciando em sua biodegradabilidade e solubilidade em solventes (SILVA, 2014).

Além disso, grau de esterificação determina a solubilidade e a compatibilidade com plastificantes, assim como com outros polímeros, onde também apresenta influência sobre as suas propriedades mecânicas. Sendo assim, coexiste uma relação inversamente proporcional entre a solubilidade em solventes polares e compatibilidade com a concentração de grupos acetila (grau de substituição) na estrutura, enquanto que a solubilidade com solventes não polares reduz com a diminuição do grau de substituição (SILVA, 2002).

De acordo com Liu e Sun (2007), o acetato de celulose pode ser classificado como triacetato e diacetato, de forma que a forma triacetilada geralmente apresentam GS acima de 2,8 e a diacetilada entre 2,2 e 2,7. Sendo, portanto, o acetato de celulose produzido a partir do processo de extração da palma forrageira (*Nopalea Cochenillifera*) triacetilado por apresentar grau de substituição de 2,84. Podemos observar na figura 11 o acetado de celulose obtidos após o procedimento de acetilação da celulose extraída da palma forrageira.

**Figura 11-** Acetato de celulose obtido a partir da celulose da palma forrageira.



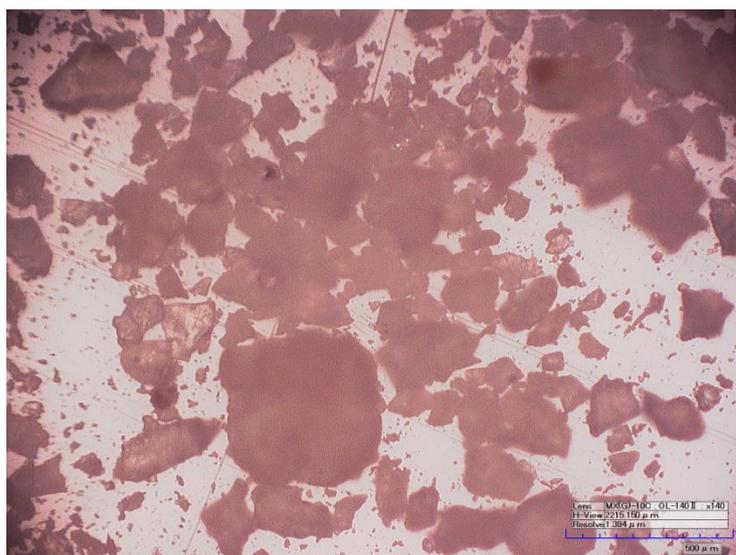
**Fonte:** Dados de pesquisa

### 3.4 Morfologia

Segundo LEITE (2015), a celulose pode ser obtida na forma de diferentes tipos de materiais celulósicos, como celulose microcristalina (MCC), a celulose nanofibrilada (NFC) e nanocristais de celulose (CNC). Cada uma dessas apresenta dimensões, morfologia, grau de cristalinidade e propriedades mecânicas intrínsecas e distintas. Na microscopia eletrônica de varredura (MEV) da celulose branqueada obtida a partir do bagaço da cana-de-açúcar, demonstraram que as fibras apresentaram-se com característica fibrosa, com formato achatado e com extremos aguçados (ROCHA; MULINARI; 2017).

Através da microscopia óptica do acetato de celulose obtido a partir da celulose extraída da palma, tornou-se possível verificar as características morfológicas da amostra. Observando a figura 12, percebe-se que o acetato de celulose apresenta um caráter heterogêneo em relação ao formato das partículas, apresentando em maior proporção a formação de granulados, perdendo a característica fibrosa que inerente às partículas de celulose. As fotomicrografias por MEV obtidas por Barros (2016) demonstraram que o acetato de celulose apresentou em sua predominância aspecto granuloso, o que é de grande importância considerando suas propriedades de fluxo e compactação.

**Figura 12-** Microscopia óptica do acetato de celulose



Fonte: Dados de pesquisa

### 3.5 Espectroscopia na região do infravermelho com transformada de fourier (FTIR) do polímero acetato de celulose

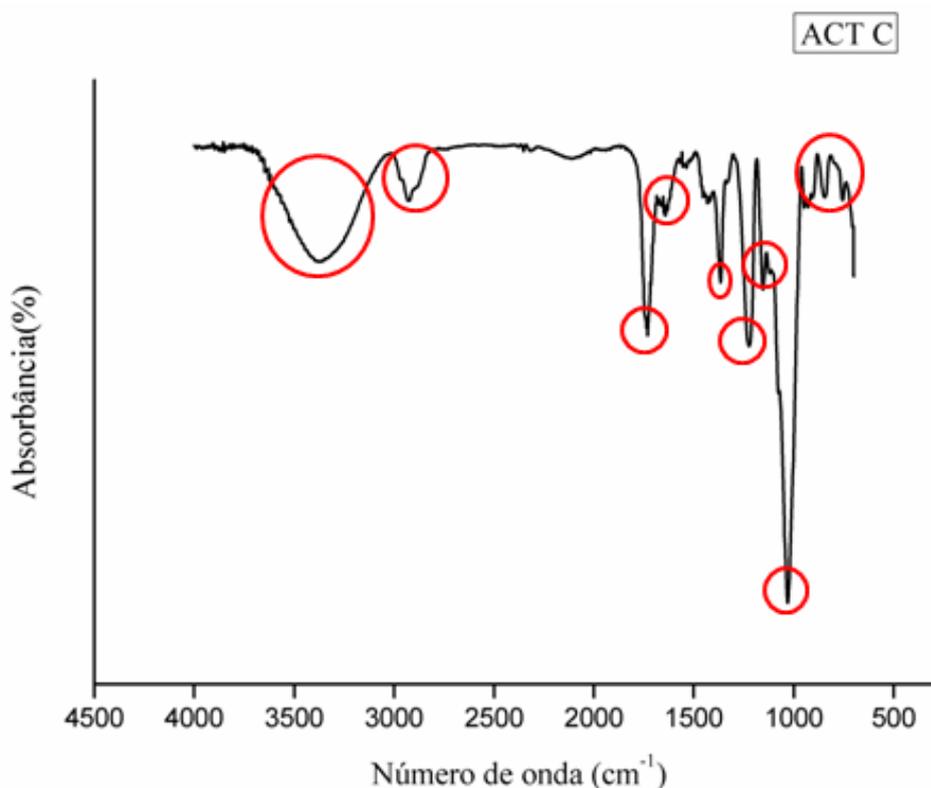
A espectroscopia na região do infravermelho ( $4000 - 400 \text{ cm}^{-1}$ ) trata-se de uma ferramenta utilizada na elucidação estrutural em análises qualitativas na área da química de produtos naturais, síntese e transformações orgânicas. Esse método fornece informação em relação aos grupos funcionais que podem está contidos na estrutura das substâncias, sendo comumente bastante utilizada na caracterização dos constituintes de uma cadeia polimérica, por determinar alguns tipos de ligações e grupos funcionais (SILVA, 2014).

Na figura 13 tem-se a presença de bandas de baixa intensidade em aproximadamente  $3700 \text{ cm}^{-1}$  a  $3100 \text{ cm}^{-1}$  características de estiramentos de ligação O-H que podem estar remanescente na estrutura do polímero nas unidades monoméricas do acetato de celulose ou

associado à adsorção de água pela estrutura, concomitantemente tem-se a presença de bandas em aproximadamente  $1634\text{ cm}^{-1}$ , característica da deformação angular das moléculas de água; bandas na região de  $2940\text{ cm}^{-1}$  são características de estiramentos da ligação  $\text{C}_{\text{sp}^3}\text{-H}$  e as bandas características de  $\text{C=O}$  em  $1730\text{ cm}^{-1}$  do acetato de celulose. Além disso, têm-se bandas intensas em  $1220\text{ cm}^{-1}$ , associadas ao estiramento da ligação  $\text{C-O}$  de éster; as bandas em  $1430$  e  $1360\text{ cm}^{-1}$  de deformação de ligação  $\text{CH}_3$  simétrico e assimétrico de  $\text{CH}_2$ , que evidenciam a presença do polímero acetilado. Assim como estão presentes bandas características de materiais celulósicos como a banda na região de  $1030\text{ cm}^{-1}$ , característica de ligação  $\text{C-O}$  da cadeia celulósica, e a banda em  $890\text{ cm}^{-1}$  atribuída ao estiramento da ligação glicosídica entre as unidades de glicose que compõe o monômero celobiose (FERREIRA, 2019).

A ausência das bandas em  $1760 - 1840\text{ cm}^{-1}$  e  $1700\text{ cm}^{-1}$  são indicadores de que o anidrido acético e o ácido acético utilizados no processo de extração não estão presentes no acetato. Desta forma, pode-se afirmar que a reação de acetilação ocorreu com êxito e que os reagentes foram eliminados durante a lavagem dos acetatos (ALESI, 2019).

**Figura 13-** Análise de Infra Vermelho (FTIR) do acetato de celulose com destaque para as principais bandas.



Fonte: Dados da pesquisa

A tabela 2 resume as principais bandas na região do infravermelho associadas ao acetato de celulose

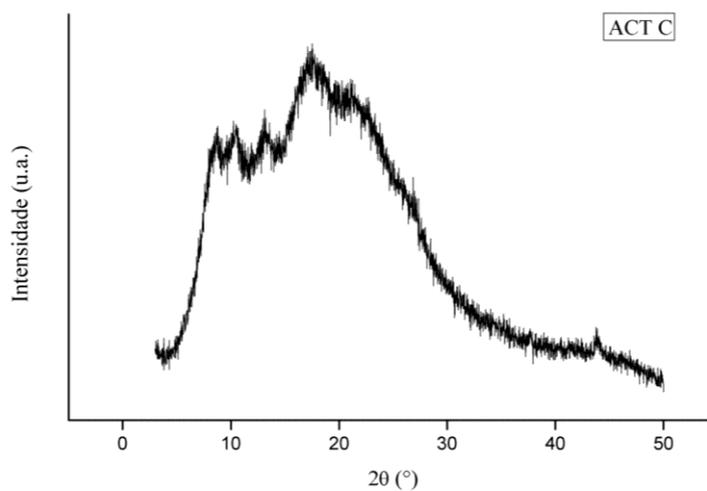
**Tabela 1-** Bandas na região do infravermelho associadas ao acetato de celulose

<b>Posição (cm<sup>-1</sup>)</b>	<b>Atribuições</b>
<b>3700-3100</b>	Estiramento O-H
<b>2940</b>	Estiramento assimétrico CH <sub>3</sub>
<b>1730</b>	Estiramento de carbonila de éster
<b>1635</b>	Deformação da água
<b>1430</b>	Deformação assimétrica CH <sub>2</sub>
<b>1360</b>	Deformação assimétrica CH <sub>3</sub>
<b>1230</b>	Estiramento C-O de acetato
<b>1030</b>	Estiramento C-O
<b>890</b>	Estiramento da ligação glicosídica

### 3.6 Difração de Raio- X (DRX)

A técnica de difração de raio-X tem como finalidade estudar os materiais, através da determinação da sua estrutura cristalina e o percentual de cristalinidade. Pois, quando os raios-X interagem com um material cristalino geram um padrão de difração e quanto mais estruturas cristalinas tridimensionais nos materiais, mais intensos, pontiagudos e estreitos serão os picos no difratograma, já a porção amorfa gera picos denominados de “halos” mais largos e menores dependendo da concentração desta porção presente na amostra (BORGES, 2018).

Ferreira et al. (2017) analisou o DRX da celulose microcristalina onde os principais sinais de difração em  $2\theta$  são 14,9, 16,3, 22,5, e 34,6°, sendo sinais característicos da celulose. De acordo com Borges (2018), o pico em 20° na figura 15 é atribuído a desordem gerada na estrutura da celulose quando a mesma é acetilada, gerando desta forma a projeção de grupos substituintes ao longo do eixo, associando-se ao aumento da distância interfibrilar e, à quebra das estruturas microfibrilares, sendo esse padrão de difração correspondente ao acetato de celulose.

**Figura 14-** Difração de Raio- X do acetato de celulose

**Fonte:** Dados da pesquisa

Além disso, segundo Marincek (2017) o surgimento de intensidades em  $2\theta = 8,2^\circ$ ,  $17,46^\circ$ ,  $22^\circ$  são característicos em alguns polímeros amorfos, por existir regiões com agregação de segmentos das cadeias paralelas, onde seu surgimento é devido a desordem gerada na acetilação da celulose. O que é atribuído desta forma à redução da cristalinidade do material, pela presença de grupos acetila.

#### 4. CONCLUSÃO

Os resultados demonstram que a palma forrageira pode ser utilizada como fonte extrativa de celulose e derivados celulósicos, que são amplamente utilizados na indústria farmacêutica como excipientes. Há necessidade de se propor metodologias que tenham em vista a otimização da extração/purificação do polímero, para se ter um melhor rendimento. O acetato de celulose foi devidamente caracterizado e identificado através de FTIR, DRX e Microscopia óptica, esta última analisando a morfologia e tamanho médio das partículas. O polímero obtido foi predominantemente triacetato (triacetato), apresentando um aumento da amorfização. As partículas apresentam-se na forma de grânulos em sua predominância havendo alguns aglomerados irregulares, com tamanho médio de 0,774  $\mu\text{m}$ , pouco coesivo, cuja fluidez é intermediária.

O mesmo será utilizado para a produção de filmes poliméricos para emprego em lesões cutâneas, para isso será realizado a incorporação de um derivado N-acilidrazônico com promissora atividade antiinflamatória.

## REFERENCIAL BIBLIOGRÁFICO

ALESI, L. S. A. Síntese e caracterização de membrana de acetato de celulose obtida a partir da polpa acetossolve da madeira de *Schizolobium parahyba* (Vell.) Blake. **Dissertação (mestrado)**-Universidade Federal de São Carlos, campus Sorocaba, Sorocaba. 2019.

ANDRIOLI, A. *et al.* Caracterização do insumo ibuprofeno e a correlação com propriedades de dissolução e de fluxo. **Revista de Ciências Farmacêuticas Básica e Aplicadas**, 2014.

ANTUNES, D.P.C. *et al.* Estudo do pré- tratamento ácido da palma forrageira para a produção de etanol de segunda geração. **XX Congresso Brasileiro de Engenharia Química**, Florianópolis/SC, 2014.

BARROS, A.R.A. Micropartículas de acetato de celulose sintetizado a partir da palma forrageira (*Opuntia ficus- indica* (L.) Miller) para obtenção de sistema de liberação controlada do captopril. **Dissertação (Mestrado)** – Universidade Estadual da Paraíba, Centro de Ciências Biológicas e da Saúde, 2016. 75p.

BORGES, M. F. Desenvolvimento de membranas de acetato de celulose incorporadas com aditivos funcionais para tratamentos regenerativos periodontais. **Dissertação (mestrado)** - Universidade Federal de Uberlândia, Programa de Pós-Graduação em Química, 2018.

CARR, R. L. Evaluating flow properties of solids. **Chemical Engineering**, v.72, n.1, p.163-168. 1965.

CERQUEIRA, D. A., *et al.* Optimization of sugarcane bagasse cellulose acetylation. **Carbohydrate Polymers**, v.69, n.3, p.579-582. 2007.

CERQUEIRA, D. A., *et al.* Synthesis and properties of polyaniline-cellulose acetate blends: the use of sugarcane bagasse waste and the effect of the substitution degree. **Carbohydrate Polymers**, v.78, n.3, p.402-408. 2009.

CHIACCHIO, F. P. B., *et al.* Palma forrageira: uma oportunidade econômica ainda desperdiçada para o semi-árido baiano. **Bahia Agrícola**, v.7, n.39-49. 2006.

CRUZ, A. C., *et al.* Utilization of cellulose acetate produced from mango seed cellulose as matrix for production of microparticles systems. **Química Nova**, v.34, n.3, 2011, p.385-389. 2011.

EDGAR, K. J. Cellulose esters in drug delivery. **Cellulose**, v.14, n.1, Feb, p.49-64. 2007.

FERREIRA, M. V. Produção de membranas de acetato de celulose simétricas e assimétricas para aplicação na liberação dos fármacos ibuprofeno e naproxeno. **Dissertação (mestrado)** - Universidade Federal de Uberlândia, Programa de Pós-Graduação em Química, 2019.

FERREIRA, B. C. S.; GIL, L. F.; GURGEL, L. V. A. Obtenção de um Novo Derivado Carboxilado de Celulose Microcristalina: Uma Síntese Fácil e sem Solvente. **Rev. Virtual Quim.**, 2017.

FILHO, P.F. de S. Palma forrageira (*Opuntia ficus indica* e *Nopalea cochenillifera*) como matéria- prima para produção de etanol celulósico e enzimas celulolíticas. **Dissertação (Mestrado)**- Universidade Federal do Rio Grande do Norte, Programa de pós graduação em Engenharia Química, 2014.

FOOD AND AGRICULTURE ORGANIZATION OF THE UNITED NATIONS. [FAO]. Crop ecology, cultivation and uses of cactus pear. **IX International Congress on Cactus Pear and Cochineal**. Chile: Mar. 2017.

FRIGIERI, T. C. O Efeito da Lignina residual e dos Ácidos Hexenurônicos na Geração de Organoclorado com Dióxido de Cloro. Tese (doutorado) – Universidade Estadual Paulista, Faculdade de Engenharia de Guaratinguetá, 2016.

GALVÃO JÚNIOR, J. G. B. Palma forrageira na alimentação de ruminantes: cultivo e utilização. **Acta Veterinaria Brasilica**, v. 8, n. 2, p. 78-85, 2014.

GUYOT, J. J., *et al.* Commentaires relatifs aux méthodes générales d'analyse des formes orales solides récemment introduites dans les pharmacopées française et européenne. **STP Pharma Pratiques**, v.7, n.1, p.482-494. 1995.

HAUSNER, H. H. Friction conditions in a mass of metal powder. **International Journal of Powder Metallurgy**, v.3, n.1, p.7-13. 1967.

LEITE, L. S. F. Preparação e caracterização de compósitos de acetato de celulose e nanocristais de celulose. **Dissertação (mestrado)** – Universidade Estadual de Campinas, Instituto de Química. 2015.

LIU, C. F.; SUN, R. C.; ZHANG, A. P.; REN, J. L. Preparation of sugarcane bagasse cellulosic phthalate using an ionic liquid as reaction medium. *Carbohydrate Polymers*. V. 68, (1), p. 17-25, 2007.

MALAININE, M. E.; DUFRESNE, A.; DUPEYRE, D.; MAHROUZ, M.; VUONG, R.; VIGNON, M. R. Structure and morphology of cladodes and spines of *Opuntia ficus-indica*. Cellulose extraction and characterisation. **Carbohydrate Polymers**, v.51, p. 77-83, 2003.

MALHEIRO, J.P.T. Síntese, caracterização e aplicação do acetato de celulose a partir da palma forrageira (*Opuntia Ficus-indica* (L.) Miller) para liberação modificada de fármacos. **Dissertação (mestrado)** – Universidade Estadual da Paraíba, Centro de ciências Biológicas e da Saúde, 2015.

MARINCEK, A. M. Produção de filmes de triacetato de celulose a partir da celulose extraída de fonte lignocelulósica alternativa. **Trabalho de Conclusão de Curso**- apresentado ao Programa de -Graduação em Química Industrial, do Instituto de Química da Universidade Federal de Uberlândia (UFU), 2017.

MEIRELES, C. da S. Síntese e caracterização de membranas de acetato de celulose, obtido do bagaço de cana-de-açúcar, e blendas de acetato de celulose com poliestireno de copos

plásticos descartados. **Dissertação (Mestrado)** – Universidade Federal de Uberlândia, Instituto de Química, Programa de Pós-Graduação em Química, 2007.

NAVARRO, M.V.M. Emprego de redes neurais artificiais supervisionadas e não supervisionadas no estudo de parâmetros reológicos de excipientes farmacêuticos sólidos. **Dissertação (Mestrado)** – Programa de pós-graduação em Desenvolvimento e Inovação Tecnológica em Medicamentos, Universidade Federal do Rio Grande do Norte, 2014.

OLIVEIRA, E. E., *et al.* Xylan from corn cobs, a promising polymer for drug delivery: production and characterization. **Bioresource Technology**, v.101, n.14, Jul, p.5402-5406. 2010.

OLIVEIRA, G. G. G. de. Desenvolvimento e avaliação de formulações para cápsulas gelatinosas duras. **Dissertação (Mestrado)** – Faculdade de Ciências Farmacêuticas da Universidade de São Paulo, 2005. 141p

PESSOA, R.A.S. et al., Diferentes suplementos associados à palma forrageira em dietas para ovinos: consumo, digestibilidade aparente e parâmetros ruminais. **Revista Brasileira de Saúde e Produção Animal**, v.14, n.3, p.508-517, jul-set., 2013.

RODRIGUES-FILHO, G., *et al.* Characterization of methylcellulose produced from sugar cane bagasse cellulose: crystallinity and thermal properties. **Polymer Degradation and Stability**, v.92, n.2, Feb, p.205-210. 2007.

ROCHA, G. J. M.; MULINARI, D. R. Modificação das fibras de celulose provenientes do bagaço de cana-de-açúcar com hidróxido de alumínio. **Cadernos UniFOA**, v. 6, n.1. 2017.

RODRIGUES FILHO, G. et al. Water flux through cellulose triacetate films produced from heterogeneous acetylation of sugar cane bagasse. **Journal of Membrane Science**, v. 177, n. 1-2, p. 225- 231, ago. 2000.

SANTOS, T. do N. Avaliação da biomassa de sorgo sacarino e palma forrageira para produção de etanol em Pernambuco. **Dissertação (Mestrado)** – Universidade Federal de Pernambuco. CTG. Programa de Pós-Graduação em Tecnologias Energéticas e Nucleares, 2012.

SILVA NETO, J. M. da. Isolamento das frações celulósicas e hemicelulósicas do bagaço do sorgo sacarino (*Sorghum bicolor* (L.) Moench) e síntese de acetato de celulose. **Dissertação (Mestrado em Engenharia Química)** – Universidade Federal de Campina Grande, Centro de Ciências e Tecnologia, 2018.

SILVA, G. A. da. Compatibilização de blendas de acetato de celulose e poliestireno com viniltriacetoxissilano: comportamento morfológico e biodegradação. **Dissertação (doutorado)** – Universidade Estadual de Campinas – UNICAMP, Campinas, 2002.

SILVA, V. L. da. Aproveitamento sustentável do bagaço de cana de açúcar para obtenção do acetato de celulose. **Dissertação (mestrado)**- Universidade Federal do Rio Grande do Norte, Centro de Ciências Exatas e da Terra, Programa de Pós Graduação em Química, 2014.

VILA NOVA, S. da R. M. Palma forrageira (*Opuntia fícus-indica*): prospecção das tecnologias e pontencialidades de inovação. **Dissertação (Mestrado em Propriedade Intelectual)** – Universidade Federal de Alagoas, Instituto de Química e Biotecnologia. Maceió, 2018.

WANCZINSKI, B. J. et al. Desenvolvimento de comprimidos de AAS 500 mg: influência do Amido 1500® na compressão direta. **Acta Scientiarum**, v. 24, n. 3, p. 649-655, 2002.

**CAPITULO II-CARACTERIZAÇÃO FÍSICO-QUÍMICA**  
**DE FILMES DE ACETATO DE CELULOSE**  
**CONTENDO UM DERIVADO N-ACILIDRAZÔNICO**

## **Capítulo II- Caracterização físico-química de filmes de acetato de celulose contendo um derivado n-acilidrazônico**

### **1. INTRODUÇÃO**

Os polímeros são considerados a classe de materiais mais versáteis responsáveis por mudar nosso dia-a-dia nas últimas décadas. A associação da ciência dos polímeros com as ciências farmacêuticas levou a um salto considerável em termos de novidades no desenvolvimento de novos sistemas de administração de fármacos. Os sistemas de administração poliméricos destinam-se principalmente a obter um controle temporal ou espacial da administração dos fármacos (PILLAI, 2001; GEORGE, 2019).

A introdução dos primeiros sistemas de administração à base de polímeros sintéticos levou a um interesse maior na procura e na síntese de novos polímeros biodegradáveis que evitam a necessidade de remover o medicamento do local de aplicação, diferentemente dos sistemas poliméricos não degradáveis. Reconhecer que o contato entre um sistema de entrega de fármacos e uma camada de células epiteliais melhorará o tempo de permanência, bem como a eficácia do sistema de liberação, resultou no aumento da busca de polímeros bioadesivos. Outros avanços na ciência dos polímeros levaram a sistemas de poliméricos que podem regular a liberação de um agente bioativo em resposta a um estímulo específico (PILLAI 2001; PRAJAPATI, 2019),

Polissacarídeos, como a celulose e seus derivados representam um grupo de polímeros naturais largamente utilizados em formas farmacêuticas, sendo preferidos, em detrimento de polímeros sintéticos, devido à baixa toxicidade, baixo custo e disponibilidade. Aliado a isto, a biodegradabilidade, características filmogênicas e sua versatilidade têm constituído um elemento de elevado interesse e destaque no grupo de excipientes farmacêuticos (GOY, 2004; SILVA, 2015; GEORGE, 2019).

O acetato de celulose é um dos derivados de celulose mais importantes, com uma produção anual de cerca um milhão de toneladas, sendo sintetizado industrialmente pela reação da celulose com anidrido acético e ácido acético na presença de ácido sulfúrico (FISCHER et al., 2008). O acetato de celulose é um éster de celulose que se apresenta em diferentes formas de acordo com seu grau de substituição, ou seja, o número de grupos acetila ligados aos grupos hidroxila de uma única unidade de anidroglicose (FERREIRA JUNIOR, 2009; LIEBERT, 2010). Esse polímero é usado para

produzir uma grande variedade de produtos, como: produtos têxteis, bases de filmes em fotografia, filtros de cigarros, filmes em embalagens plásticas, entre outros (PULS, 2010). Tedeschi e colaboradores (2018) também relatam o emprego em diferentes aplicações, como revestimentos de superfície e na liberação controlada de substâncias ativas, compósitos, resinas, membranas para processos de separação e filmes ópticos.

O acetato de celulose apesar de mostrar maior hidrofobicidade em comparação com a celulose pura devido à menor presença de grupos hidroxila, ainda apresenta-se como um material hidrofílico e absorvente de água, com melhores propriedades para aplicação em sistemas biológicos quando comparados aos materiais plásticos comuns à base de petróleo (BIAŁOPIOTROWICZ, 2002; MOSTAFA, 2015). A acetilação da celulose confere também ao polímero importantes características para seu uso pela indústria farmacêutica devido a propriedades essenciais como: baixa toxicidade, boa estabilidade, elevada permeação a água, elevada temperatura de transição vítrea e compatibilidade com uma série de agentes ativos (EDGAR, 2007).

O uso de filmes polimérico para o tratamento cutâneo é de extrema importância, pois a pele humana, que é considerada o maior órgão do corpo humano é responsável por diferentes funções, como proteção contra atrito, radiação ultravioleta, perda de água e invasão de microrganismo. Além de desempenhar o papel de barreira de ataque externo, a pele possui um papel importante na percepção do tato, bem como do processo de termorregulação corpórea pelo o ajuste do fluxo sanguíneo e da transpiração (SZWED; SANTOS, 2015). Apesar da variedade de curativos já comercializados, destinados para a regeneração de feridas, não há um produto existente que vai ao encontro de um curativo ideal, visto que a escolha do produto depende de vários fatores, como, condição do paciente, tipo da ferida e estágio da lesão (MOURA et al., 2013). Deste modo, existe uma necessidade real por materiais que possam acelerar o processo de cicatrização, além de propiciar uma maior segurança ao paciente (WIEGAND; HIPLER, 2010).

Com isso, Devi e Dutta (2017) em seu estudo, reforçam a utilização de filmes de poliméricos para tratar feridas cutâneas, nas quais mostram as diversas vantagens que este polímero pode trazer, quando associado a outras substâncias. Devido a isso, a incorporação de insumos farmacêuticos ativos, como o composto JR-19 de nomenclatura N'-(1H-indol-3yl) metileno-2-cianoacetohidrazida, pode ser uma substância a ser utilizada para ser incorporada nesses filmes poliméricos, apresentando uma ação farmacológica direcionada ao local de ação na pele. O JR-19 é um derivado do *N*- acilidrazônicos, que em estudos prévios realizados por

Apolinário (2016), apresentou uma atividade anti-inflamatória promissora nos modelos de peritonite induzida por carragenina, bolsão de ar subcutâneo e edema de pata induzido por carragenina, com redução significativa da migração leucocitária e do edema, respectivamente.

A caracterização físico-química vem se mostrando essencial para análise da microestrutura de diversos sistemas, fazendo parte do controle de qualidade de medicamentos, podendo prever desde incompatibilidades até formular prazos de validade para produtos farmacêuticos. Nesse contexto, objetivou-se desenvolver e caracterizar filmes poliméricos de acetato de celulose incorporados com JR19, considerada estrutura privilegiada para o desenvolvimento de novos fármacos, o que pode representar um novo tratamento para várias doenças inflamatórias.

## 2. MATERIAL E MÉTODOS

### 2.1 Material

Acetato de celulose comercial (Sigma-Aldrich®) identificada pelo número de referência do produto 419028-500G; Composto JR19 derivado do *N*-acilidrazônico, sintetizado no Laboratório de Síntese e Vetorização Molecular (LSVM) da UEPB (campus V); acetona P.A (Neon®); Glicerina bi-destilada (Viafarma®); álcool etílico P.A (Neon® e Dinâmica®) e água destilada.

### 2.2 Métodos

#### 2.2.1 Produção dos filmes de celulose com e sem JR-19

Para o desenvolvimento dos filmes foi utilizado o método de *'casting'* que é baseado no espalhamento da solução precursora sobre um substrato (geralmente uma placa de vidro). Nos filmes sem JR-19 (FB), o acetato de celulose (ACT) foi testado em diferentes concentrações (0,5; 1,0; 1,5; 2,0; 2,5; 3,0% p/p), o polímero foi dissolvido em uma solução de acetona P.A sob agitação em sonda de ultrassom por 2 minutos seguida de 1 minuto em banho de ultrassom. Foi utilizada glicerina bi-destilada nas concentrações de 5%, 10% e 15% como agente plastificante. A solução resultante foi vertida em placas de Petri com diâmetro de 5,5 cm, em um volume de 5 mL para secagem, as películas formadas foram avaliadas por aspectos macroscópicos e características sensoriais mecânicas. Para o desenvolvimento dos filmes incorporados com o JR-19 (FJR19), 10 mg do fármaco foi dissolvido em 5 mL da solução contendo o acetato de celulose, sob agitação em sonda de ultrassom por 2 minutos seguida de 1 minuto em banho de ultrassom, para que ocorra total homogeneização. A quantidade de fármaco utilizado por filme foi determinado através de cálculo utilizando a área da lesão e o peso dos animais, de forma que a forma final fosse proporcional a 20 mg/Kg. Para ambas as soluções (com e sem o JR-19) a secagem da solução polimérica foi realizada em geladeira com temperatura entre 2 e 8 °C por um período de 4 horas para remoção do solvente.

## 2.2.2 Validação do método analítico espectrofotométrico para doseamento da JR19

A molécula JR19 foi dissolvida em solução hidroalcolica (álcool etílico/água destilada 60:40 v/v) formando a solução estoque com concentração inicial de 50 µg/mL. A validação do método analítico foi realizada conforme a RESOLUÇÃO DA DIRETORIA COLEGIADA- RDC Nº 166, de 24 de julho de 2017 da ANVISA (BRASIL, 2017). A molécula foi quantificada através do espectrofotômetro com detector UV/VIS 1900 (Shimadzu®) seguindo os seguintes parâmetros: seletividade (especificidade), linearidade, exatidão, precisão, robustez, limite de detecção e limite de quantificação. Todas as análises foram realizadas em triplicata, com exceção da precisão que foi feita em sextuplicata.

Para determinação do comprimento de onda ( $\lambda$ ) de detecção da molécula JR19, foram realizadas varreduras da mesma, utilizando a faixa de 190 a 1100 nm da solução do fármaco em álcool etílico/água destilada (60:40 v/v), a fim de identificar o ( $\lambda$ ) em que o fármaco apresentava o valor máximo de absorbância, visto que a molécula em estudo é de caráter inovador. O comprimento de onda selecionado para a quantificação do JR19, de acordo com a curva de maior absorbância, foi de 310 nm.

### 2.2.2.1 Seletividade e especificidade

A seletividade do método foi avaliada pela comparação das curvas espectrais da molécula JR19, dos FB e FJR19, obtido pela dissolução em álcool etílico/água destilada (60:40 v/v), a fim de verificar a banda de absorbância característica do fármaco.

### 2.2.2.2 Linearidade

A curva analítica foi construída a partir de uma solução estoque de JR19 a uma concentração de 50 µg/mL, na qual, por meio de diluições seriadas em álcool etílico/água destilada (60:40 v/v), foram obtidas 7 concentrações diferentes (1; 2; 4; 6; 8; 10 e 12 µg/mL) em triplicata. Os resultados foram tratados estatisticamente para determinação do coeficiente de correlação ( $r$ ) e obtenção da equação da reta.

### 2.2.2.3 Exatidão

A exatidão do método foi verificada a partir de três diferentes níveis de concentração: baixa (1 µg/mL), média (6 µg/mL) e alta (12 µg/mL), com três réplicas em cada nível, expressa pela concentração média experimental e a concentração teórica, conforme a Equação 10.

$$\text{Exatidão} = \frac{\text{Concentração média experimental}}{\text{Concentração teórica}} \times 100 \quad (10)$$

#### 2.2.2.4 Precisão

A precisão foi determinada utilizando seis réplicas na concentração do ponto médio (6 µg/mL). A precisão foi expressa por meio da repetibilidade e da precisão intermediária, a qual foi obtida pela análise de uma mesma amostra, no mesmo laboratório, realizada por operadores distintos e analisadas em dias diferentes, sendo representada em coeficiente de variação expressa em porcentagem (CV%), com nível de significância inferior a 5%, conforme a RESOLUÇÃO RE 166/2017.

#### 2.2.2.5 Robustez

A robustez foi avaliada em triplicata na concentração do ponto médio (6 µg/mL), a partir da solução de JR19, utilizando álcool etílico de diferentes fabricantes (Êxodo<sup>®</sup> científica e Neon<sup>®</sup>) e em uma solução com pH acidificado com 20 µl de ácido acético, passando de um pH de 6,6 para 5,2.

#### 2.2.2.6 Limite de Detecção (LD)

O LD foi obtido a partir da divisão do desvio padrão (DP) com o coeficiente linear das curvas de calibração do ensaio de linearidade, expressa em triplicata, pela média da inclinação da curva (IC) de calibração das mesmas, multiplicados por 3,3, conforme a Equação 11:

$$LD = \frac{3,3 \times \sigma}{IC} \quad (11)$$

#### 2.2.2.7 Limite de Quantificação (LQ)

O LQ foi determinado de forma semelhante ao LD, porém, multiplicando-se os valores por 10, conforme a Equação 12.

$$LQ = \frac{10 \times \sigma}{IC} \quad (12)$$

### 2.2.3 Caracterização físico-química dos constituintes e filmes formados

#### 2.2.3.1 *Ensaio de Resistência ao dobramento*

A análise de resistência ao dobramento foi realizada para medir a flexibilidade dos FB e FJR19, que é necessário para determinar se a forma farmacêutica desenvolvida é confortável e segura para aplicar-se na superfície da ferida. A resistência dobrável é determinada manualmente, dobrando repetidamente o filme no mesmo ponto até este se romper ou ser dobrado até 300 vezes (DEVI; DUTTA, 2017). A quantidade de dobramentos sem qualquer ruptura dá o valor exato de sua resistência. A análise foi realizada no Laboratório de Desenvolvimento e Caracterização de Produtos Farmacêuticos (LDCPF), em triplicata, a fim de obter um valor médio.

#### 2.2.3.2 *Ensaio de Tração*

O ensaio de tração foi realizado com o objetivo de avaliar a deformação (%) e resistência à tração (Mpa) dos FB e FJR19. Os filmes foram medidos com o micrômetro digital de modelo Colante Proof, série 293 (MITUTOYO<sup>®</sup>, Suzano, Brasil) e a análise foi realizada na Máquina Universal de Ensaio, modelo 3366 (INSTRON<sup>®</sup>, Norwood, EUA) de acordo com a norma ASTM D882-91 (ASTM, 1991). Foram utilizados os seguintes parâmetros: corpo de prova do tipo 4, com distância entre as garras de 12 cm; comprimento de 25 mm e largura de 4 mm. As análises foram realizadas no Laboratório de Avaliação e Desenvolvimento de Biomateriais do Nordeste (Certbio) da Universidade Federal de Campina Grande (UFCG) em triplicata, a fim de obter um valor médio.

#### 2.2.3.3 *Microscopia Óptica (MO)*

A técnica de MO foi realizada em um Microscópio Óptico digital, modelo KH7700 (Hirox<sup>®</sup>, Tóquio, Japão) de reflexão e transmissão com acessórios 3D e variação de 140X e

3500X, acoplado a uma estação de análise de imagens. As análises foram realizadas no Certbio da UEPB e consistiu em colocar os FB e FJR19 para análise da sua projeção na tela de análise do microscópio.

#### *2.2.3.4 Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV)*

Os aspectos morfológicos dos FB e FJR19 foram observados através de microscopia eletrônica de varredura (MEV) de bancada, modelo VEGA3 (TSCAN®, Brno, República Checa) com energia fixa de 8 KV. As amostras foram preparadas previamente dispono-as de maneira uniforme em uma fina camada sobre fita de carbono e metalizando-as em ouro com tempo de metalização de 80 segundos e espessura média de 10 nm. A metalização foi realizada no Departamento de Química da Universidade Federal do Pernambuco (UFPE) e a MEV no campus V da UEPB.

#### *2.2.2.5 Análise Térmica*

##### *2.2.2.5.1 Calorimetria Exploratória Diferencial (DSC)*

As curvas DSC do material foram obtidas em um módulo Calorimétrico Exploratório Diferencial, modelo 8500 (Perkin Elmer®, Boston Massachusetts, EUA). Foram utilizadas amostras de  $2,00 \pm 0,05$  mg, acondicionadas em cadinho de alumínio hermeticamente fechados, analisadas na razão de aquecimento de  $10 \text{ }^\circ\text{C}\cdot\text{min}^{-1}$ , com temperatura de 25-400°C. Utilizou-se atmosfera de nitrogênio, com fluxo de  $50 \text{ mL}\cdot\text{min}^{-1}$ . As análises foram realizadas no Certbio da UEPB.

##### *2.2.2.5.2 Termogravimetria (TG) e sua Derivada (DTG)*

As curvas termogravimétricas foram obtidas em um módulo termogravimétrico TGA 400 (Perkin Elmer®, Boston Massachusetts, EUA). Foram utilizadas amostras de  $5,00 \pm 0,05$  mg, acondicionadas em cadinhos de alumina para cada amostra, utilizando uma razão de aquecimento de  $10^\circ\text{C}\cdot\text{min}^{-1}$ , com temperatura de 25°C a 900°C, sob uma atmosfera de nitrogênio, com fluxo de  $50 \text{ mL}\cdot\text{min}^{-1}$ . As análises foram realizadas no Certbio da UEPB.

#### 2.2.2.6 Espectroscopia na Região do Infravermelho com Transformada de Fourier (FTIR)

Esta análise foi realizada utilizando um espectrômetro Spectrum TM 400 FT-IR/FT-NIR (Perkin Elmer<sup>®</sup>, Boston, Massachusetts, EUA) com resolução de  $4\text{ cm}^{-1}$ , velocidade de varredura de  $0,2\text{ cm}^{-1}$  e varredura de  $4000$  a  $650\text{ cm}^{-1}$ . As análises foram realizadas no Certbio da UFCG.

#### 2.2.2.7 Difração de raios-X (DRX)

Foi utilizado um Difratorômetro de raios-X, modelo XRD-6000 (Shimadzu<sup>®</sup> Kyoto, Japão) com varredura angular  $5^\circ < 2\theta < 35^\circ$ , na montagem de Bragg-Brentano, sistema  $\theta$ - $2\theta$ , utilizando-se radiação de Cu ( $k\alpha_1$ ) com varredura no passo de  $0,02$  ( $2\theta$ ), com intervalo de  $0,6$  segundo para cada amostra. As análises foram realizadas no Centro de Tecnologias Estratégicas do Nordeste (CETENE) em Pernambuco.

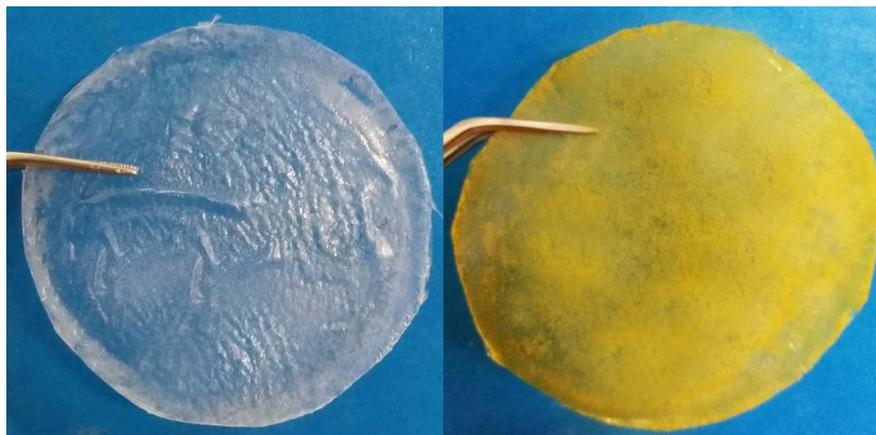
### 3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

#### 3.1 Desenvolvimento dos filmes de acetato de celulose com e sem JR19

No desenvolvimento dos filmes observou-se que as membranas formadas em concentrações de ACT acima de 2% apresentaram propriedades mecânicas e espessura inadequada para uso como curativo tópico. Na concentração de 0,5% apresentaram-se frágeis e quebradiços. Os filmes obtidos a 1,5% do polímero apresentaram macroscopicamente boa distribuição do fármaco e boas propriedades sensoriais mecânicas como elasticidade e flexibilidade. Os FB mostraram-se incolor, enquanto os FJR19 apresentaram coloração alaranjada, o que faz disso um indicativo da incorporação do fármaco na matriz polimérica, visto que a cor da molécula em pó assemelha-se ao do filme formado. Os filmes formados com e sem a JR19 podem ser observados na figura 15. Até o presente momento da pesquisa, não houve êxito no desenvolvimento dos filmes de ACT obtido a partir da celulose da palma, desta forma, toda a caracterização foi realizada com os sistemas desenvolvidos a partir do ACT da Sigma-Aldrich®.

Para formação desses sistemas, substâncias chamadas de plastificantes, como o glicerol, são geralmente adicionados ao acetato de celulose. Os polímeros, quando revestidos isoladamente, têm capacidade limitada para formação de membranas com boas propriedades mecânicas. A adição de plastificante é vital para a formação de uma membrana robusta, pois essas substâncias tem a capacidade de interagir com as cadeias poliméricas reduzindo a atração intermolecular da rede tridimensional polimérica para fornecer maior flexibilidade, resistência ao choque e suavidade desejada ao sistema resultante. Além do efeito plastificante, eles também desempenham um papel importante na modulação dos perfis de liberação de medicamentos (TANAKA, 2017; KHATRI, 2018). Desta forma, adicionou-se a formulação 10% de glicerol para atuar como agente plastificante.

**Figura 15-** Filmes de acetato de celulose sem e com o fármaco.



Fonte: Dados da pesquisa.

### 3.2 Validação do método analítico espectrofotométrico para doseamento da JR19

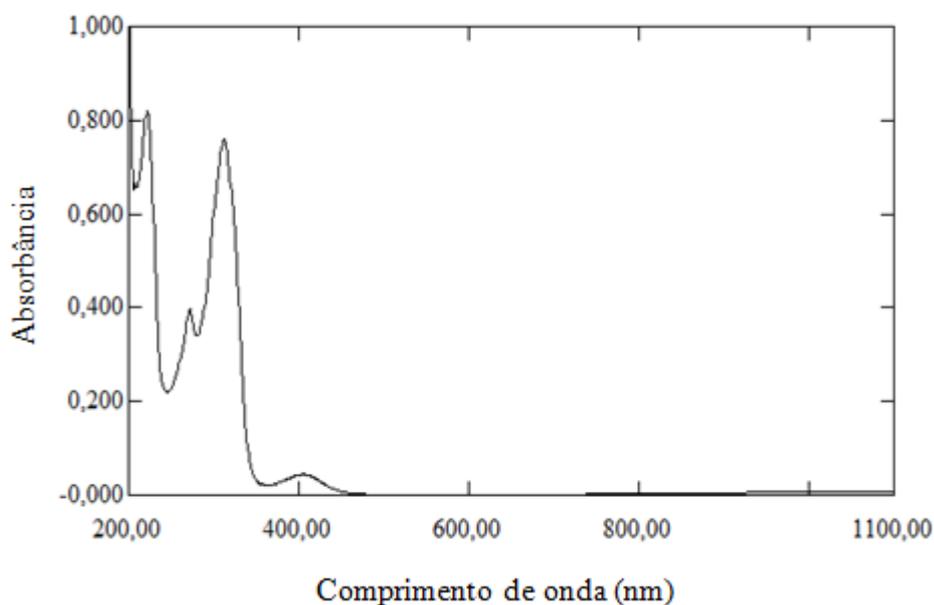
A validação do método analítico é o processo pelo qual se estabelece evidência documentada, através de estudos laboratoriais, de que as características de desempenho ou parâmetros analíticos do método alcançam os requisitos para as aplicações analíticas pretendidas, este procedimento é um aspecto vital da garantia da qualidade analítica e se constitui em uma das exigências das normas de Boas Práticas de Laboratório (BPL) e Boas Práticas de Fabricação (BPF) vigentes (SANTANA et al., 2009).

Segundo a RDC N°166 de 24 de julho de 2017 da ANVISA, 2017, validação é um ato documentado no qual os procedimentos, registros, resultados e avaliação da validação são consolidados e sumarizados, atestando que qualquer processo, equipamento, material, operação, ou sistema realmente conduz aos resultados esperados, sendo a avaliação sistemática de um método por meio de ensaios experimentais de modo a confirmar e fornecer evidências objetivas de que os requisitos específicos para seu uso pretendido serão atendidos. Para tanto, deve apresentar especificidade, linearidade, precisão, limite de quantificação, sensibilidade, exatidão, adequados à análise (BRASIL, 2017).

Através de varredura espectrofotométrica na faixa de 1100 a 190 nm, utilizando uma solução de JR19, verificou-se a presença de três bandas no espectro de absorção entre 190 e 350 nm, sendo a principal absorbância em comprimento de onda ( $\lambda$ ) de 310 nm e correspondente ao grupo cromóforo indol (Figura 16). Este valor de  $\lambda$  foi considerado adequado para detecção do fármaco, utilizando um espectrofotômetro com detector UV/VIS no desenvolvimento e validação do método analítico. A determinação do comprimento de

onda da JR19 foi fundamental para que os parâmetros da validação fossem avaliados, tendo em vista que tais informações não são encontradas na literatura.

**Figura 16-** Espectro de varredura da JR19 no ( $\lambda$ ) de 1100 a 190, apresentando os picos de absorção.

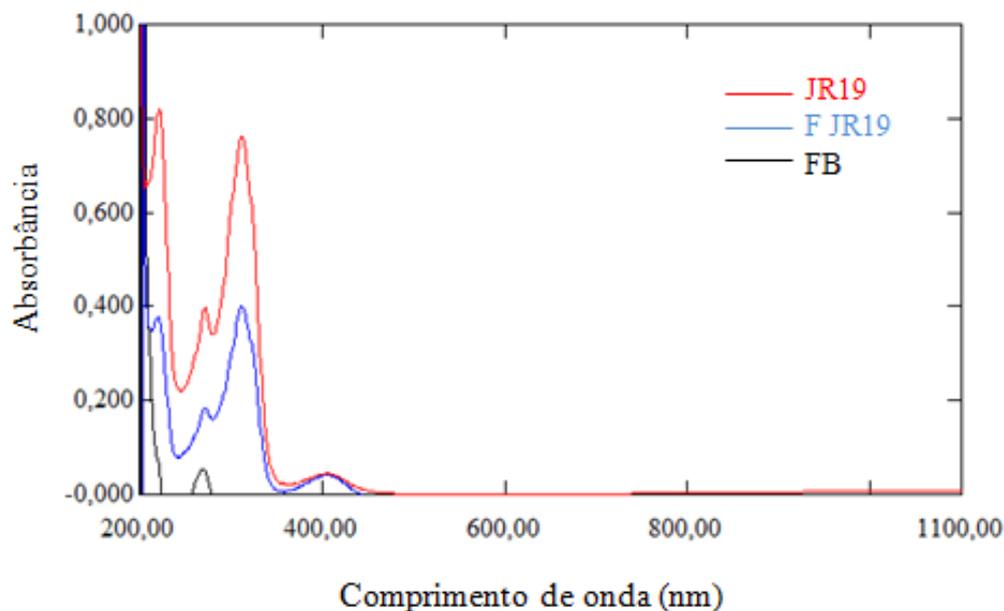


Fonte: Dados da pesquisa.

### 3.2.1 Seletividade

A seletividade do método analítico deve ser demonstrada por meio da sua capacidade de identificar ou quantificar o analito de interesse, inequivocamente, na presença de componentes que podem estar presentes na amostra, como impurezas, diluentes e componentes da matriz (BRASIL, 2017). A metodologia desenvolvida demonstrou ser seletiva, uma vez que no comprimento de onda determinado para a molécula (310 nm), não foi evidenciado picos interferentes relacionados aos componentes da formulação sem o fármaco (matriz polimérica), evidenciando também a detecção do perfil de absorbância da molécula na formulação com a JR19, como pode ser observado na Figura 17.

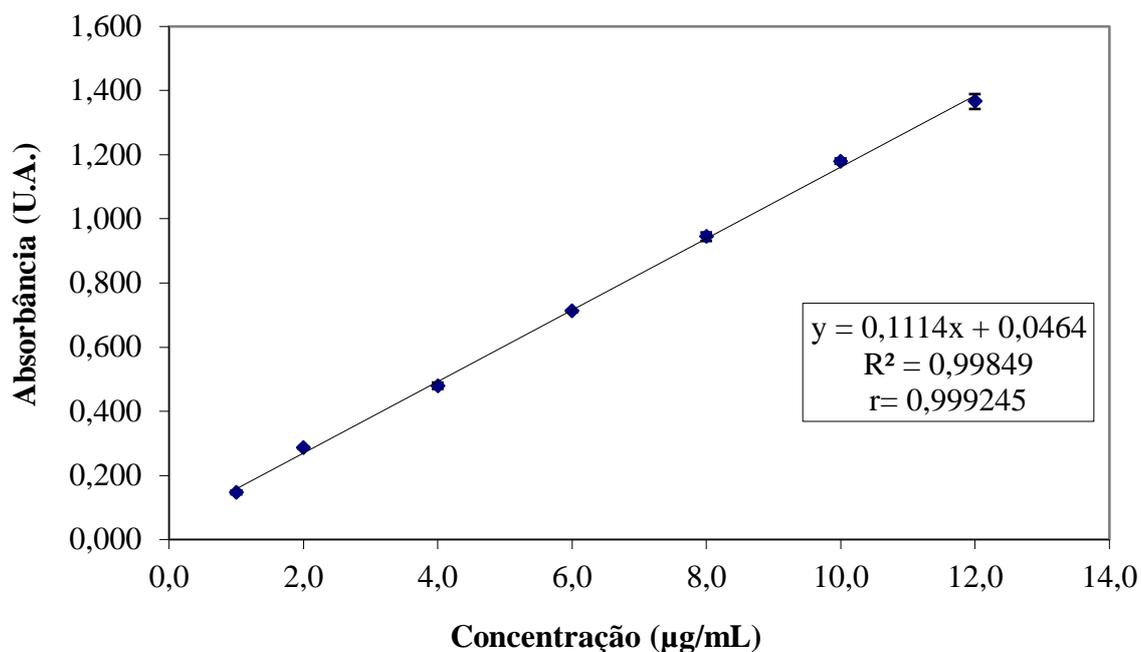
**Figura 17-** Espectro de varredura da JR19, do FJR19 e do FB no ( $\lambda$ ) de 1100 a 190 nm.



Fonte: Dados da pesquisa.

### 3.2.2 Linearidade

A linearidade de um método deve ser demonstrada por meio da sua capacidade de obter respostas analíticas diretamente proporcionais à concentração de um analito em uma amostra (BRASIL, 2017). O método exposto apresentou-se na faixa de linearidade e sua curva analítica foi descrita pela equação  $y = 0,1114x - 0,0464$  obtida pelo método dos mínimos quadrados, apresentando um coeficiente de correlação ( $r$ ) de 0,999245 e coeficiente de determinação ( $r^2$ ) igual a 0,99849 de acordo com a Gráfico 1. Segundo a RDC N° 166, de 24 de julho de 2017 da ANVISA, o critério mínimo aceitável do coeficiente de correlação ( $r$ ) da curva de calibração deve estar acima de 0,990, assegurando então a linearidade do método analítico.

**Gráfico 1** – Curva de calibração da molécula JR19 (média; n=3).

**Fonte:** Dados da pesquisa.

Para confirmação da linearidade do método, verificou-se por meio da análise de variância a significância estatística da curva ajustada. Desta forma, observamos na tabela 3 que o valor de F calculado (12581,31) é maior que o valor de F tabelado (2,82935), atestando que o método é linear em nível de confiança de 95%.

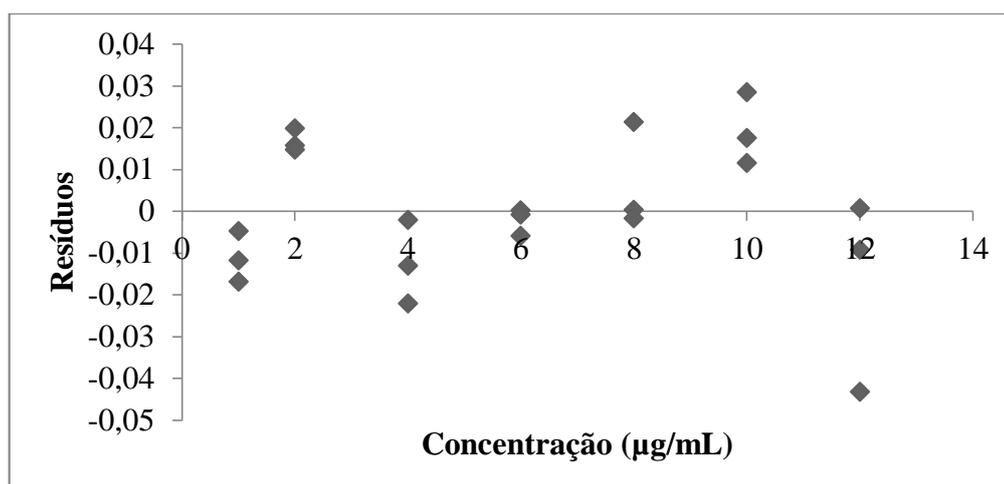
**Tabela 2-** Teste de análise de variância (ANOVA).

	Graus de liberdade	Soma Quadrática	Média quadrática	F	F de significância
Regressão	1	3,755211252	3,755211252	12581,31	2,82935
Resíduo	19	0,005671034	0,000298475		
Total	20	3,760882286			

**Fonte:** Dados da pesquisa.

O gráfico 2 expõe a adequabilidade do modelo, demonstrando variância constante (homocedasticidade) no comportamento de dispersão dos resultados obtidos das amostras em torno dos valores preditos pela equação do modelo.

Gráfico 2- Análise de resíduos



Fonte: Dados da pesquisa.

### 3.2.3 Exatidão

A exatidão de um método analítico deve ser obtida por meio do grau de concordância entre os resultados individuais do método em estudo em relação a um valor aceito como verdadeiro (BRASIL, 2017). Após a contemplação do intervalo linear do método analítico em triplicata dos valores de absorbância, a partir dos três níveis de concentrações: baixa (1 µg/mL), média (6 µg/mL) e alta (12 µg/mL), pode-se observar coeficientes de variações (CV %) menores que 5%, valor este aceitável pela legislação vigente para determinar o método exato, conforme a Tabela 4, variando de 0,37 a 1,72%.

**Tabela 3-** Resultado analítico para análise da exatidão do método proposto.

Nível de concentração (µg/mL)	Amostra 1	Amostra 2	Amostra 3	Média	DP	CV (%)
Baixo (1)	0,148	0,144	0,142	0,145	0,002	1,72
Médio (6)	0,708	0,719	0,711	0,713	0,005	0,64
Alto (12)	1,372	1,369	1,381	1,374	0,005	0,37

Fonte: Dados da pesquisa.

### 3.3.3 Precisão

A precisão avalia a proximidade entre os resultados obtidos por meio de ensaios com amostras preparadas conforme descrito no método analítico a ser validado (BRASIL, 2017).

Os dados da Tabela 5 apresentam os valores obtidos durante a determinação da precisão do método, que foi expressa por meio da repetibilidade em sextuplicata do nível médio de concentração (6 µg/mL) e pela precisão intermediária em dias distintos e por analistas diferentes, conforme a legislação vigente (BRASIL, 2017). Assim como na exatidão, os coeficientes de variações foram inferiores a 5% o que determina o método analítico exposto é preciso, variando entre 0,36 a 1,06%.

**Tabela 4-** Resultado analítico da precisão do método proposto.

<b>Analista</b>	<b>Dia</b>	<b>Concentração teórica (µg/mL)</b>	<b>Média da concentração obtida (µg/mL)</b>	<b>Média</b>	<b>DP</b>	<b>CV (%)</b>
<b>Analista 1</b>	Dia 1	0,715	0,712	0,714	0,003	0,39
	Dia 2	0,715	0,709	0,712	0,003	0,36
<b>Analista 2</b>	Dia 1	0,715	0,710	0,713	0,004	0,45
	Dia 2	0,715	0,727	0,721	0,008	1,06

Fonte: Dados da pesquisa.

### 3.2.5 Robustez

A robustez é um parâmetro tipicamente realizado no desenvolvimento do método analítico que indica a sua capacidade em resistir a pequenas e deliberadas variações das condições analíticas (BRASIL, 2017). A Tabela 6 mostra que o método apresentou robustez, uma vez que as diferentes amostras (solvente 1 e 2; pH) em triplicata do nível médio de concentração (6 µg/mL), apresentaram-se dentro das especificações exigidas pela legislação, que é o coeficiente de variação menor que 5%.

**Tabela 5-** Resultado analítico da robustez do método proposto.

<b>Modificações</b>	<b>Concentração teórica (µg/MI)</b>	<b>Média da concentração obtida (µg/MI)</b>	<b>Média</b>	<b>DP</b>	<b>CV (%)</b>
<b>Solvente 1</b>	0,715	0,717	0,716	0,005	0,71
<b>Solvente 2</b>	0,715	0,714	0,715	0,003	0,43
<b>Ph</b>	0,715	0,722	0,719	0,004	0,55

Fonte: Dados da pesquisa.

### 3.2.6 Limite de Detecção (LD) e Limite de Quantificação (LQ)

Os valores estimados para o limite de detecção e quantificação foram de 0,0003228  $\mu\text{g/mL}$  e 0,0010758  $\mu\text{g/mL}$ , respectivamente. Esses valores demonstram boa sensibilidade do método e atesta que o mesmo é capaz de detectar e quantificar pequenos valores do fármaco em dissolução no meio, portanto, a compreensão desses resultados é fundamental para futuros ensaios de liberação da JR19 a partir dos filmes de ACT.

### 3.3 Resistência ao Dobramento

A análise de resistência ao dobramento é uma técnica simples e rápida que objetiva verificar a flexibilidade dos filmes, com ela podemos analisar parâmetros relacionados à consistência dos filmes, sendo muito importante para se prever outras propriedades mecânicas, facilitando uma adequação prévia do sistema para mais segurança e conforto na aplicação da superfície de uma lesão cutânea. Os FJR19 apresentaram-se íntegros até, em média, 372 dobragens, enquanto os FB apresentaram resistência ao dobramento até, em média, 348 dobragens. Esses resultados corroboram com os dados de Wanderley (2019) que demonstraram que a presença do fármaco (JR19) influenciou nas propriedades físico-químicas dos filmes de quitosana promovendo maior resistência ao dobramento do sistema, indicando que estes são seguros, assim como os filmes de acetato de celulose, em termos de resistência para aplicação tópica.

### 3.4 Ensaio de Tração

As propriedades mecânicas dos materiais são verificadas pela execução de ensaios cuidadosamente programados que reproduzem o mais fielmente possível as condições de serviço. Dentre os fatores a serem considerados nos ensaios incluem-se a natureza da carga aplicada que pode ser de tração, compressão ou cisalhamento, a duração de aplicação dessa carga que pode ser de apenas uma fração de segundo ou pode se estender por um período longo, as condições ambientais e a magnitude que pode ser constante ao longo do tempo ou flutuar continuamente (CALLISTER, 2007).

As propriedades mecânicas dos polímeros são especificadas por muitos dos mesmos parâmetros que são usados para os metais. Para muitos materiais poliméricos, através do

ensaio tensão-deformação é possível estimar esses parâmetros. Tensão é definida genericamente como a resistência interna de uma força externa aplicada sobre um corpo, por unidade de área. Deformação, por sua vez, é definida como a variação de uma dimensão qualquer desse corpo, por unidade da mesma dimensão, quando submetido a um esforço qualquer. (REIS, 2019).

A forma de se avaliar a viabilidade de aplicação de filmes para o desenvolvimento de curativos é verificar sua flexibilidade, através das análises de resistência mecânica a tração (Mpa) e deformação (%) (SASIKALA; DURAI; RATHINAMOORTHY, 2013). Os filmes poliméricos que apresentam menor grau de deformação e valores razoáveis de resistência a tração, são sugestivos de terem elevado potencial em aplicações médicas (BANO et al., 2014; KOUCHAK, 2015).

Para obtenção do ensaio de tração é necessário à realização da análise da espessura dos filmes, a qual é mostrada na Tabela 7. Para obtenção da espessura uniforme dos filmes, foram usadas placas de Petri com os mesmos diâmetros e volumes de todas as soluções preparadas. A espessura média dos FB é de  $0,132 \pm 0,016$  mm e dos FJR19 de  $0,137 \pm 0,019$  mm. Observando-se assim um pequeno aumento da espessura dos filmes após a incorporação do fármaco, porém, sem relevância estatística.

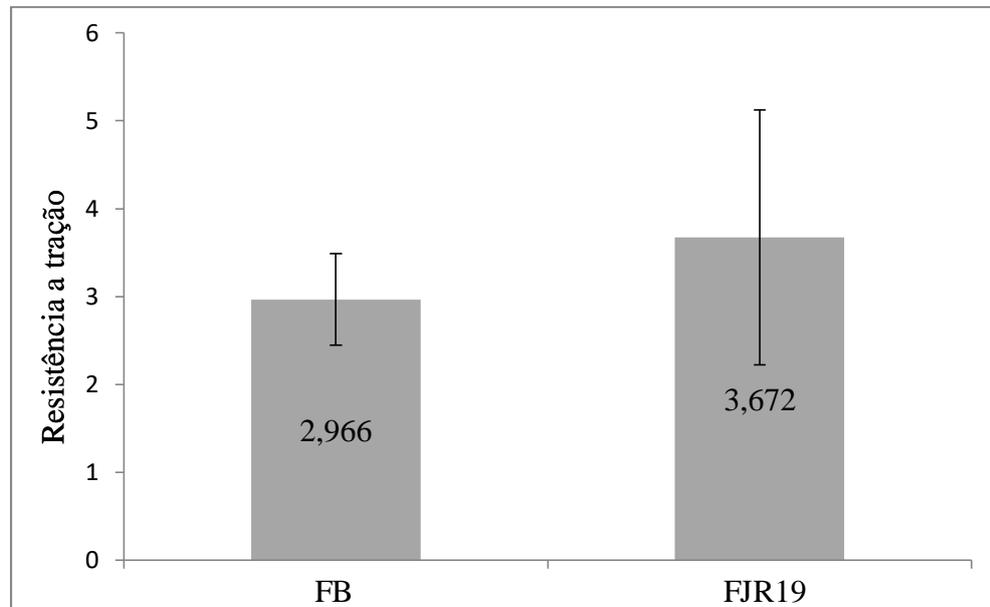
**Tabela 6-** Espessura dos filmes de acetato de celulose com e sem a JR19.

<b>Amostras</b>	<b>Espessura média (mm)</b>
<b>FB</b>	$0,132 \pm 0,016$
<b>F JR19</b>	$0,137 \pm 0,019$

Fonte: dados da pesquisa.

O gráfico 3 demonstra os valores referentes à resistência a tração dos FB e FJR19. Podemos observar que houve, com a presença da JR19, um leve aumento de resistência a tração ( $3,672 \pm 1,45$  MPa), o que corresponde a um material mais resistente quando comparado aos filmes de sem a JR19 ( $2,966 \pm 0,52$  MPa), porém, os filmes formados não apresentam diferença estatística que comprove essa maior resistência. Este resultado é compatível com a análise de dobramento, em que os filmes contendo o fármaco apresentaram uma média de dobragens maior do que os filmes sem.

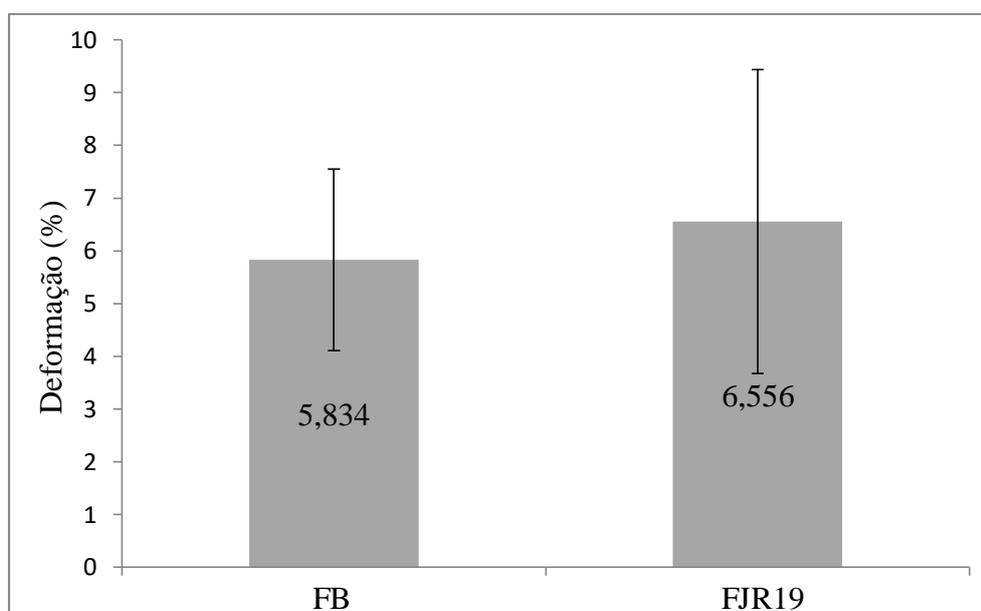
**Gráfico 3** – Valores referente à resistência a tração (Mpa) dos filmes de acetato de celulose sem a JR19 (FB) e com a JR19 (FJR19).



Fonte: dados da pesquisa.

O gráfico 4 apresenta os valores referentes à análise de deformação. Podemos observar que, assim como os resultados anteriores, a incorporação da JR19 resultou em um discreto aumento nos valores, demonstrando maior flexibilidade dos filmes, porém, não apresentaram diferença estatística que comprovasse esse aumento na taxa de deformação do sistema com a presença do fármaco. Os FJR19 tiveram uma média de  $6,556 \pm 2,88$  %, enquanto os FB apresentaram  $5,834 \pm 1,72$  %.

**Gráfico 4** – Valores referente à deformação (%) dos filmes de acetato de celulose sem a JR19 (FB) e com a JR19 (FJR19).



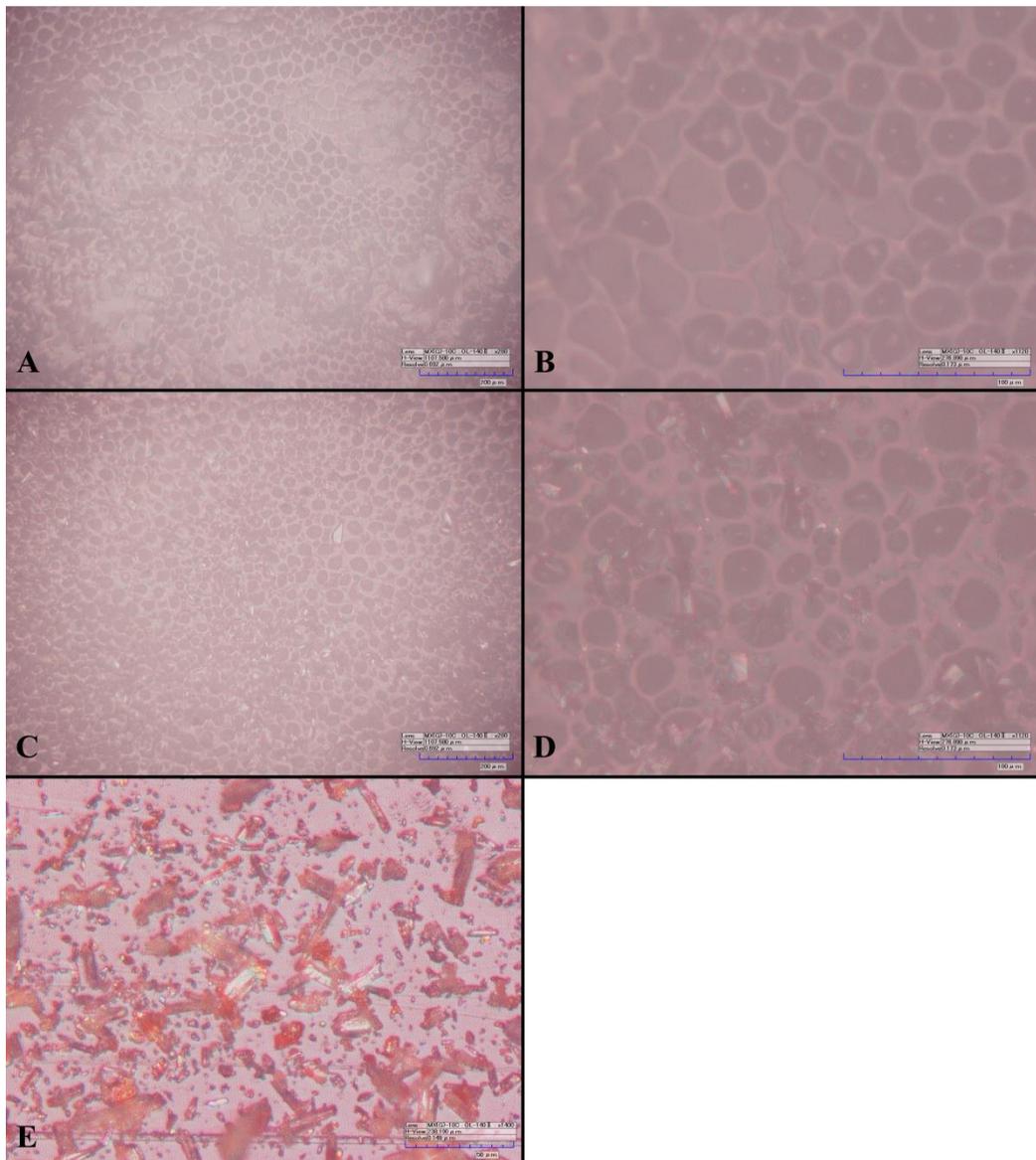
Fonte: dados da pesquisa.

Segundo Evans et al. (2013), os biomateriais utilizados para a confecção de um curativo devem apresentar tensão na ruptura compatível com o da pele, a qual pode sofrer variação de 4 a 30 Mpa. Desta forma, os filmes desenvolvidos apresentaram uma resistência à tração próxima a escala sugerida pela literatura, entretanto, se levarmos em consideração o desvio padrão obtido a partir das repetições da análise, podemos concluir que os filmes apresentam propriedades mecânicas de resistência adequada para aplicação tópica. Liu et al. (2013) e Reis (2019) relatam que a presença do glicerol atuando como plastificante na formulação provoca um desarranjo da rede polimérica causando um aumento da flexibilidade dos filmes e diminuição da resistência a tração. Portanto, um ajuste na concentração percentual do plastificante usado na formulação pode resultar em uma melhora da resistência a tração apresentada pelos filmes.

### 3.5 Microscopia Óptica (MO)

A MO foi realizada com o objetivo de avaliar a estrutura superficial dos FB e FJR19. As micrografias são apresentadas na Figura 18.

**Figura 18-** Microscopia óptica dos FB em aumento de 280x (A) e 1.120x (B), e dos FJR19 em aumento de 280x (C) e 1.120x em (D) e cristais da JR19 em aumento de 1.400x (E).



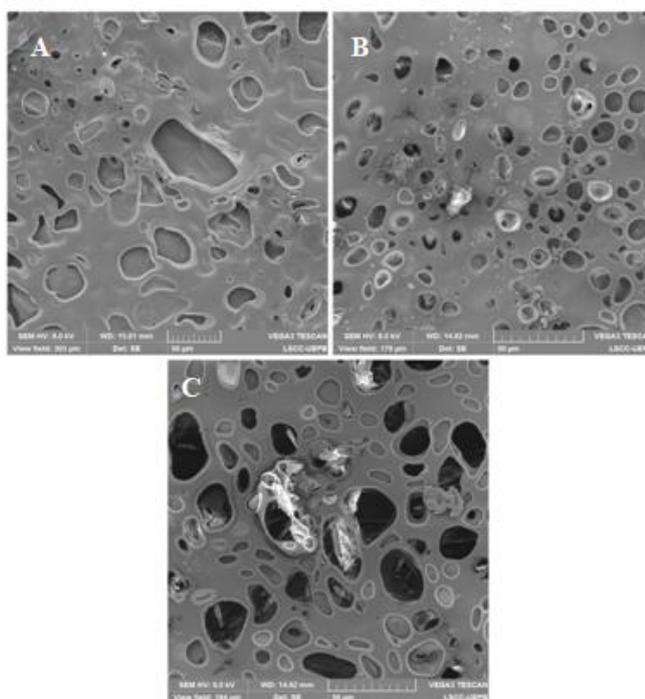
Fonte: dados da pesquisa.

Observando-se as micrografias é possível observar a presença de pequenos poros arredondados e de distribuição homogênea por toda a superfície dos filmes. A principal diferença entre os FB e FJR19 é evidenciada quando observadas no aumento de 1.120 vezes, onde é possível visualizar a presença de cristais cilíndricos dispersos na superfície de todo filme. Esses cristais observados se assemelham ao cristal da JR19 que podem ser observados na imagem E da figura. A presença desses cristais nos filmes com o fármaco evidencia a presença da JR19 no filme, uma vez que essas estruturas não podem ser observadas nos FB.

### 3.6 Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV)

Por meio da MEV a observação da estrutura superficial é mais bem observada para melhorar o entendimento da estrutura dos filmes. A figura 19 apresenta a micrografias dos FB e FJR19.

**Figura 19-** MEV dos FB e FJR19. A - FB (escala de 50  $\mu\text{m}$ ), B - FJR19 (escala de 50  $\mu\text{m}$ ), C - FJR19 (escala de 20  $\mu\text{m}$ ).



Fonte: dados da pesquisa.

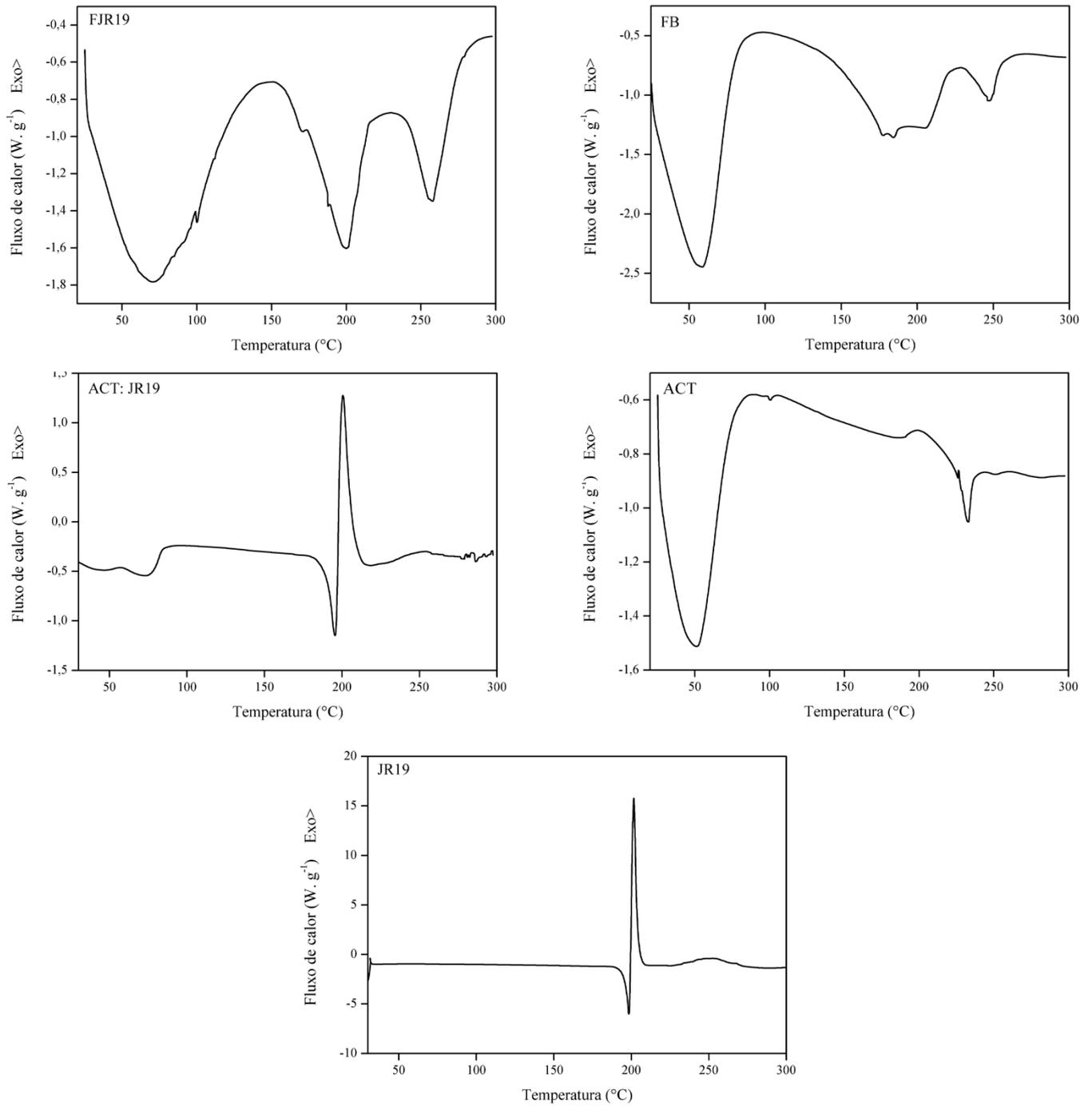
As micrografias ilustram para ambos os filmes uma superfície lisa e porosa. A observação da presença de cristais semelhantes aos característicos da JR19 podem novamente ser notadas nas imagens B e C dos FJR19, resultado esse que corrobora com os dados obtidos na MO e nos resultados de Wanderley (2019), em que pode-se observar também a presença de cristais da JR19 em filmes poliméricos de quitosana. Na imagem C podemos observar nitidamente a presença do cristal do fármaco entremeado na porosidade da membrana.

A presença de poros por toda a superfície das membranas pode está associada à presença do glicerol atuando como plastificante na formulação. A literatura relata que a presença de um agente plastificante em filmes poliméricos promove um aumento na permeabilidade aos gases nos filmes, uma vez que, as moléculas de glicerol ligam-se as moléculas do biopolímero aumentando a mobilidade nas cadeias poliméricas e diminuindo a densidade entre a rede polimérica formada,

facilitando a passagem de gases através das membranas (MELO, 2015; REIS, 2019). Ferreira (2019) demonstra em seus estudos que essas características podem ser interessantes e exploradas para controle do perfil de liberação dos filmes, portanto, o controle da porosidade por modulação da quantidade de plastificante na formulação pode ser considerada como objeto de estudo para o ensaio de liberação da JR19 a partir dos filmes de ACT que serão realizados posteriormente.

### **3.7 Análise Térmica por Calorimetria Exploratória Diferencial (DSC) e Termogravimetria e sua derivada (TG/DTG)**

A avaliação do comportamento térmico de cada componente, da mistura física entre eles e das formulações é de suma importância uma vez que as técnicas empregadas permitem uma análise sobre existência ou não de interações entre o polímero e o fármaco que podem inviabilizar o desenvolvimento do sistema. Nas figuras 20 e 21 podemos observar as curvas de DSC e TG/DTG das amostras, respectivamente.

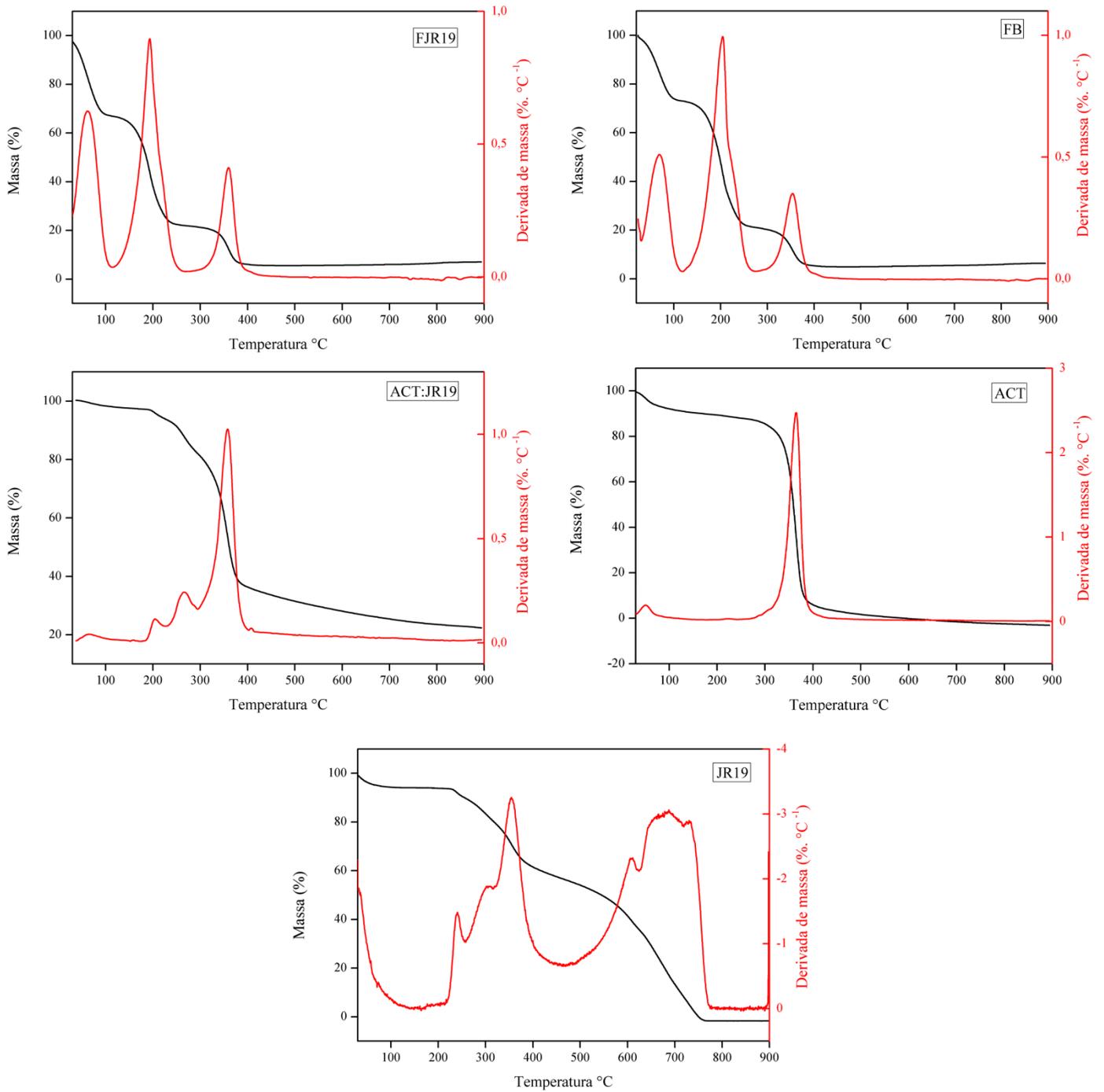
**Figura 200-** Curvas de DSC das amostras

Fonte: dados da pesquisa

No DSC, a curva referente à JR19 apresentou três picos, um endotérmico ( $T_{\text{pico}} = 198,40 \text{ }^\circ\text{C}$  e  $\Delta H = 41,92 \text{ J g}^{-1}$ ) representando a temperatura de fusão do fármaco e dois exotérmicos ( $T_{\text{pico}} = 201,64 \text{ }^\circ\text{C}$  e  $\Delta H = 159,4 \text{ J g}^{-1}$ ;  $253,11 \text{ }^\circ\text{C}$  e  $\Delta H = 59,88 \text{ J g}^{-1}$ ). Em relação ao ACT os gráficos expressam dois picos endotérmicos característicos do polímero, o primeiro em  $T_{\text{pico}} = 51,05 \text{ }^\circ\text{C}$  e  $\Delta H = 185,04 \text{ J g}^{-1}$  e o segundo em  $T_{\text{pico}} = 233,00 \text{ }^\circ\text{C}$  e  $\Delta H = 6,322 \text{ J g}^{-1}$ , esses dois eventos representam a dessorção de água da estrutura polimérica e a temperatura de fusão, respectivamente. O fenômeno de dessorção da água pode ocorrer em diferentes temperaturas, essa variação depende do grau de substituição do acetato de celulose. Em relação ao baixo valor de entalpia da temperatura de fusão, a literatura relata que valores dessa ordem correspondem a materiais com baixa cristalinidade, corroborando com o achado no DRX (KENDOULI et al., 2014; FREITAS, 2017). A mistura física (ACT + JR19) apresentou dois picos endotérmicos, o primeiro em  $T_{\text{pico}} = 75,05 \text{ }^\circ\text{C}$  e  $\Delta H = 18,94 \text{ J g}^{-1}$ , correspondente a dessorção de água do polímero, o segundo em  $T_{\text{pico}} = 195,61 \text{ }^\circ\text{C}$  e  $\Delta H = 33,22 \text{ J g}^{-1}$  característico da JR19, assim como o terceiro evento que é exotérmico expresso em  $T_{\text{pico}} = 200,67 \text{ }^\circ\text{C}$  e  $\Delta H = 55,02 \text{ J g}^{-1}$ . Desta forma, observamos que houve manutenção dos picos característicos da temperatura de fusão da molécula ativa.

O FB apresentou perfil térmico semelhante à amostra do polímero, apresentando também dois picos endotérmicos, um em  $T_{\text{pico}} = 59,09 \text{ }^\circ\text{C}$  e  $\Delta H = 347,2 \text{ J g}^{-1}$  e outro em  $T_{\text{pico}} = 247,66 \text{ }^\circ\text{C}$  e  $\Delta H = 25,92 \text{ J g}^{-1}$  demonstrando maior resistência térmica dos filmes em relação à dessorção de umidade residual e ao ponto de fusão. O FJR19 apresentou manutenção e aumento da temperatura de dessorção da água pelo ACT ( $T_{\text{pico}} = 71,34 \text{ }^\circ\text{C}$  e  $\Delta H = 349,6 \text{ J g}^{-1}$ ). Em seguida observa-se um segundo evento endotérmico em  $T_{\text{pico}} = 200,04 \text{ }^\circ\text{C}$  e  $\Delta H = 86,50 \text{ J g}^{-1}$  que está associado ao ponto de fusão do fármaco, atestando que não houve variação significativa de temperatura de fusão para o fármaco após a incorporação. Por fim, um terceiro evento endotérmico em  $T_{\text{pico}} = 257,87 \text{ }^\circ\text{C}$  e  $\Delta H = 47,16 \text{ J g}^{-1}$  indica um aumento na temperatura em que o filme se funde. Os resultados apresentados sugerem que não houve interação química entre os componentes analisados.

**Figura 211-** Curvas de TG/DTG das amostras



Fonte: Dados da pesquisa

A partir da figura 21, observamos que a JR19 apresentou quatro etapas de perda de massa (30-140,71 °C,  $\Delta m = 5,97\%$ ; 140,71-253,74 °C,  $\Delta m = 3,81\%$ ; 253,74-462,4 °C,  $\Delta m = 33,51\%$ , e 462,4-748,3 °C,  $\Delta m = 56,30\%$ ) com massa residual de 0,41%. A amostra de ACT sofreu duas etapas de perda de massa (30,66-151,66 °C,  $\Delta m = 9,216\%$ ; 256,59-441,86 °C,  $\Delta m = 84,4\%$ ), sendo a primeira característica da perda de componentes voláteis adsorvidos ao polímero ou água residual. A segunda, onde há perda de 84,4% do ACT é descrita na literatura como correspondente à decomposição térmica das cadeias do polímero corresponde à perda de grupos acetila presentes na estrutura seguida da cisão da cadeia polimérica e carbonização, restando massa residual de 6,384% (SILVA, 2005; SENNA, 2013). Para a mistura física ACT+JR19 notou-se a presença de quatro etapas de perda de massa (39,17-110,07 °C,  $\Delta m = 2,097\%$ ; 110,07-228,23 °C,  $\Delta m = 3,545\%$ ; 228,23-295,34 °C,  $\Delta m = 11,76\%$  e 295,34-424,85 °C,  $\Delta m = 47,08\%$ ), onde observa-se que a perda de massa ocorreu de forma predominante e semelhante aos eventos característicos do polímero como discutido acima.

Os filmes formados apresentaram perfis termogravimétricos semelhantes antes e após a incorporação da JR19. O FB apresentou três etapas de perda de massa (30,66-117,63 °C,  $\Delta m = 25,32\%$ ; 117,63-269,82 °C,  $\Delta m = 51,81\%$ ; 284,95-413,51 °C,  $\Delta m = 15,62\%$ ), enquanto o FJR19 apresentou também três etapas de perda de massa (29,72-114,79 °C,  $\Delta m = 30,73\%$ ; 114,79-272,66 °C,  $\Delta m = 45,05\%$ ; 272,66-432,41 °C,  $\Delta m = 16,26\%$ ). Notamos que na primeira etapa acontece uma perda maior de componentes voláteis da estrutura dos filmes quando comparados ao pó polímero isolado, isso se dá devido à perda de água adsorvida e uma maior quantidade de componentes voláteis na formulação, como é o caso da acetona que é usada no preparo das formulações (FERREIRA, 2019). Em seguida, temos um segundo evento com maior percentual de perda de massa, onde as etapas de cisão das cadeias poliméricas ocorrem de forma gradativa com o aumento da temperatura, simultaneamente ocorre o processo de degradação do glicerol. Na terceira etapa ocorre a carbonização e decomposição das cadeias do polímero. Esses resultados corroboram com os estudos de Melo (2015) que mostraram que a presença de glicerol nas formulações acelerou a perda de massa dos filmes de acetato de celulose por induzir a decomposição em temperaturas menores quando comparadas aos filmes de ACT puro. A tabela 7 expressa os resultados de decomposição térmica e eventos calorimétricos das amostras.

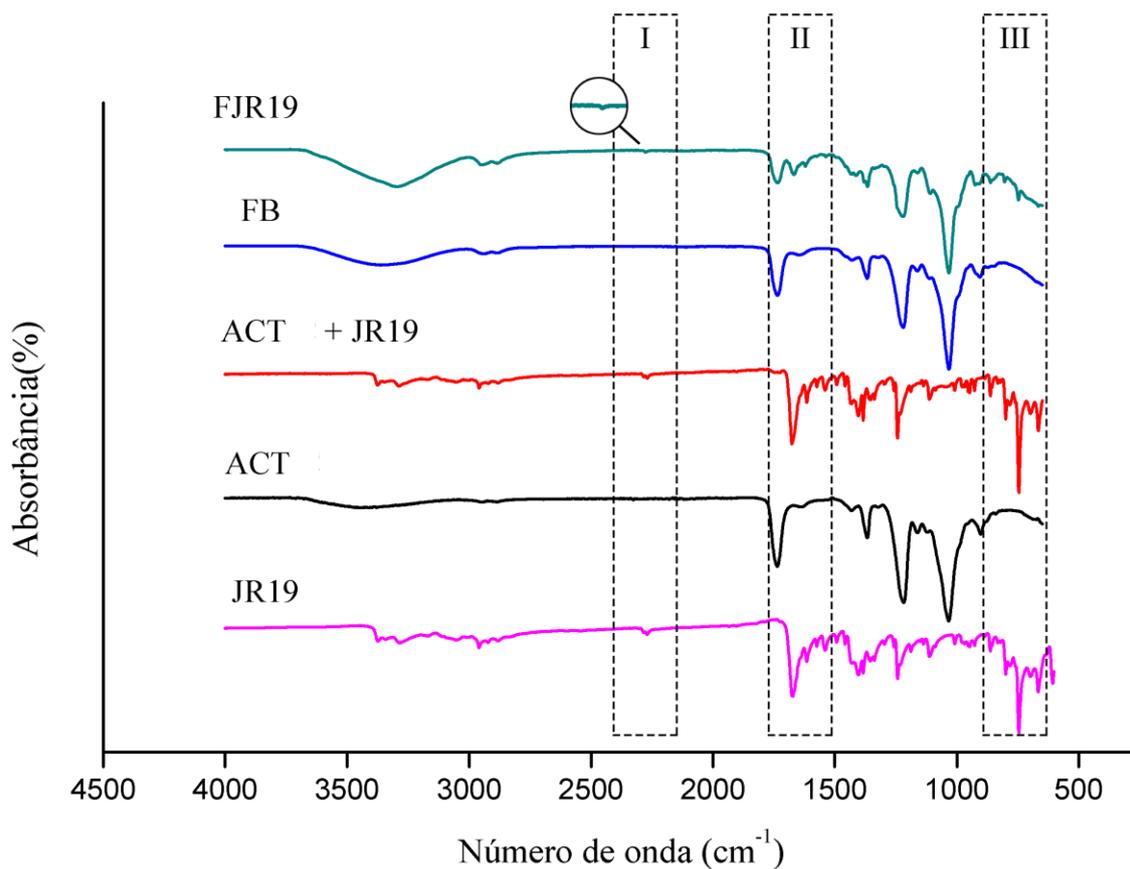
**Tabela 7-** Resultados de decomposição térmica e eventos calorimétricos das amostras.

Amostras	DSC			TG		
	Eventos	T <sub>pico</sub> (°C)	$\Delta H$ (J g <sup>-1</sup> )	Etapas	Faixa de temperatura (°C)	Massa (%)
<b>JR19</b>	1	198,40	41,92	1	30,00-140,71	5,97
	2	201,64	159,40	2	140,71-253,74	3,81
	3	253,11	59,88	3	253,74-462,40	33,51
	4			4	462,40-748,31	56,3
<b>ACT</b>	1	51,05	185,4	1	30,66-151,66	9,216
	2	233,00	6,322	2	256,59-441,86	84,40
<b>ACT:JR19</b>	1	75,05	18,94	1	39,17-110,07	2,097
	2	195,61	33,22	2	110,07-228,23	3,545
	3	200,67	55,02	3	228,23-295,34	11,76
	4			4	295,34-424,85	47,08
<b>FB</b>	1	59,09	347,2	1	30,66-117,63	25,32
	2	247,66	25,92	2	117,63-269,82	51,81
				3	284,95-413,51	15,62
<b>FJR19</b>	1	71,34	349,6	1	29,72-114,79	30,73
	2	200,04	86,50	2	114,79-272,66	45,05
	3	257,87	47,16	3	272,66-432,41	16,26

Fonte: dados da pesquisa.

### 3.8 Espectroscopia na Região do Infravermelho com Transformada de Fourier (FTIR)

A FTIR foi usada como técnica complementar para auxiliar na caracterização dos grupos funcionais e pesquisa de possíveis interações químicas entre a molécula JR19 e os filmes. A figura 22 expressa as principais bandas observadas nos espectros de FTIR.

**Figura 222-** Espectro de FTIR das amostras.

Fonte: dados da pesquisa.

As tabelas 8 e 9 expressam as principais bandas de absorção das amostras no FTIR para o polímero e o fármaco, respectivamente, demonstrando as atribuições de cada uma.

**Tabela 8-** Principais valores de absorvância associados ao acetato de celulose (ACT).

Posição (cm <sup>-1</sup> )	Atribuições
3480	Estiramento O-H
2940	Estiramento assimétrico CH <sub>3</sub>
1730	Estiramento de carbonila de éster
1635	Deformação da água
1430	Deformação assimétrica CH <sub>2</sub>
1360	Deformação assimétrica CH <sub>3</sub>
1230	Estiramento C-O-O de acetato
1030	Estiramento C-O
890	Estiramento da ligação glicosídica

Podemos observar bandas de baixa intensidade em aproximadamente  $3480\text{ cm}^{-1}$ , características de estiramentos O-H das unidades monoméricas do acetato de celulose, por este apresentar-se como diacetato (informação fornecida pela Sigma-Aldrich®), essa absorção também indica a presença de água adsorvida nas estruturas, corroborando com a absorção de bandas em aproximadamente  $1635\text{ cm}^{-1}$  que são características da deformação angular das moléculas de água. Em aproximadamente  $2940\text{ cm}^{-1}$  o espectro apresenta absorção característica de  $\text{C}_{\text{sp}^3}\text{-H}$  e de bandas  $\text{C=O}$  em  $1730\text{ cm}^{-1}$  representando a carbonila de ester do acetato de celulose. Notamos também, em  $1230\text{ cm}^{-1}$ , bandas intensas associadas ao estiramento da ligação C-O de ester. Em  $1430$  e  $1360\text{ cm}^{-1}$  observamos a deformação de ligação  $\text{CH}_2$  simétrico e  $\text{CH}_3$  assimétrico, respectivamente, evidenciando a presença do polímero acetilado. Por último, as bandas características de material celulósico nas bandas de  $1030$  e  $890\text{ cm}^{-1}$  atribuídas a ligação C-O da cadeia celulósica e ao estiramento da ligação glicosídica entre as unidades de glicose contituíntes da celobiose. O perfil do FTIR do acetato de celulose foi mantido para os FB e FJR19.

**Tabela 9-** Principais valores de absorbância associados a JR19

Posição ( $\text{cm}^{-1}$ )	Atribuições
3280	Estiramento N-H
2959	Estiramento C-H
2264	Estiramento da nitrila ( $\text{C}\equiv\text{N}$ )
1667	Deformação axial $\text{C=O}$ de amida
741	Anel aromático do grupo indol

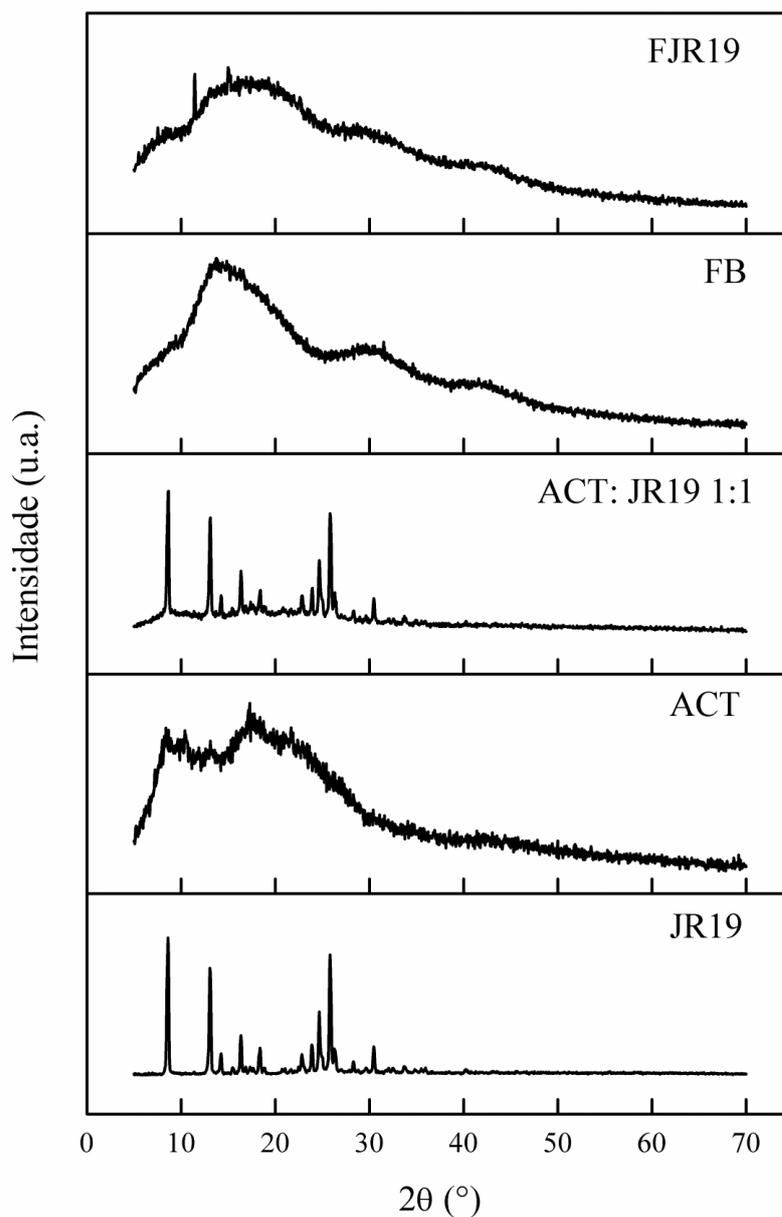
Para as amostras com JR19, os espectros apresentaram bandas características dos principais grupos funcionais da molécula isolada, como é o caso da detecção da banda do estiramento da nitrila ( $\text{C}\equiv\text{N}$ ), que variou entre  $2279$  a  $2264\text{ cm}^{-1}$ , como exposto nos trabalhos de Moraes et al. (2018), Pandey, Khan e Saxena. (2017), Ke et al. (2016) e Konnola, Nair e Joseph (2015). Esta característica manteve-se de forma semelhante na amostra isolada da JR19, na mistura física e, com menor intensidade, no filme com o fármaco, o que sugere a ligação entre o polímero e a molécula, como demonstrado por Wanderley et al., (2019) em seus resultados de incorporação da JR19 em filmes de quitosana.

Na região entre 1677 e 1636  $\text{cm}^{-1}$  notam-se absorções correspondentes à deformação axial de C=O de amida, a qual apresentou maior intensidade na amostra isolada da JR19, aparecendo também na mistura física e, em menor intensidade, no filme com o fármaco incorporado. Este evento pode ser justificado pela influência do polímero no fármaco através do processo de formação do filme (WANDERLEY et al., 2019).

Na região de 749 a 741  $\text{cm}^{-1}$  foi possível verificar uma banda de absorbância de deformação angular de quatro hidrogênios adjacentes (anéis aromáticos orto-substituídos), o que corresponde ao anel aromático do grupo indol que também podem ser observadas na mistura física e, em menor intensidade nos filmes com a presença do fármaco. A supressão de bandas da JR19 no FTIR é indicio de uma possível formação de complexo entre o acetato de celulose e o fármaco. Segundo Wojnarowska et al., (2010), a formação desses tipos de complexo entre moléculas maiores envolvendo moléculas menores se dá através de ligações não covalentes como pontes de hidrogênio e força de Van der Waals.

### **3.9 Difração de raios-X (DRX)**

O DRX é a técnica de caracterização mais indicada para se avaliar o grau de cristalinidade ou amorficidade de uma amostra. Quando os Raios-X interagem com um material cristalino eles geram um padrão de difração e quanto mais estruturas cristalinas tridimensionais nos materiais, mais intensos, pontiagudos e estreitos serão os picos no difratograma, enquanto que a parcela amorfa gera picos denominados “halos” mais largos e menores dependendo da quantidade presente desta fração (THAKRAL et al., 2018). Na Figura 23 observamos os difratogramas das amostras.

**Figura 233-** Difratoograma das amostras

Fonte: dados da pesquisa.

O espectro da JR19 exibiu reflexões em 8,54°, 12,80°, 14,09°, 16,08°, 18,19°, 22,65°, 23,59°, 24,53°, 25,70°, 28,16° e 30,27° 2θ, caracterizando a cristalinidade do composto. Para a mistura física do fármaco com o polímero as reflexões do fármaco são novamente expressas com menor intensidade de reflexão.

Analisando o difratograma do acetato de celulose, visualizamos que o mesmo apresenta difração em aproximadamente 8°, 10°, 13°, 17° e 22° 2θ, característicos de materiais acetilados com perfil semicristalino, onde os halos de 8°, 10° e 22° 2θ são considerados os mais importantes, sendo o último chamado de halo de Van der Walls que está

presente em todos os polímeros, pois corresponde ao empacotamento das cadeias poliméricas devido às forças de Van der Waals (MEIRELES, 2010). O pico em  $8^\circ 2\theta$  é atribuído à geração de desordem da celulose quando ela é acetilada, sendo esta desordem causada pela projeção dos grupos substituintes ao longo do eixo, estando associada com o aumento na distância interfibrilar e também com a quebra das estruturas microfibrilares. De acordo com Shaikh et al., (2009) e Borges (2019) este padrão de difração corresponde a estrutura do acetato de celulose.

Comparando os difratogramas apresentados, verifica-se que as membranas com e sem a incorporação da JR19 apresentam perfil de difração semelhante ao ACT. O que se observa para FB é uma diminuição na intensidade dos picos de difração apresentados pelo pó do polímero isolado, havendo um aumento no halo formado. Essa característica indica uma amorfização da estrutura que pode ocorrer pelas longas distâncias interatômicas das ligações glicosídicas que ligam os monômeros do polímero, impossibilitando um ordenamento cristalino, gerando uma estrutura aleatória (FRAGA et al., 2006; SILVA, 2015). Em relação ao difratograma referente aos FJR19, observamos uma diminuição da cristalinidade quando comparado ao acetato de celulose isolado, tal fato sugere que a incorporação do ativo promove um desordenamento na estrutura das membranas, diminuindo assim sua cristalinidade, porém dois picos são evidenciados em  $12^\circ$  e  $16^\circ 2\theta$ . O aparecimento desses picos pode ter relação com presença de uma nova forma cristalina do fármaco obtida no decorrer da formação dos filmes, o que modificou a característica cristalina desse, explicada pelas novas reflexões vistas no difratograma do filme, assim como observou Vandelei et al., (2019) em seus resultados obtidos no DRX após a incorporação da JR19 em filmes de quitosana. É comum que em misturas de fármaco-polímero ocorram interações físico-químicas que resultem na perda, diminuição ou mudança de cristalinidade do fármaco, podendo, por vezes, apresentar-se como uma vantagem por facilitar o aumento de solubilidade do ativo (LEUNER; DRESSAM, 2000; SOUSA, 2018).

#### 4. CONCLUSÃO

A metodologia empregada no trabalho possibilitou a formação de membranas com bom aspecto macroscópico e boas características sensoriais mecânicas. O método de quantificação da JR19 nas membranas, por sua vez, demonstrou-se específico, exato, preciso, robusto e rápido. Sendo esta etapa do trabalho fundamental para ensaios futuros de avaliação do perfil de liberação. Os ensaios mecânicos demonstraram que as membranas apresentam boas características para aplicação tópica em lesões cutâneas, porém, ainda assim serão realizadas análises de molhabilidade de ângulo de contato e grau de intumescimento. As técnicas de observação morfológica foram eficazes para facilitar a compreensão da estrutura das membranas formadas, possibilitando a observação de porosidades na superfície dos sistemas que podem ser favoráveis no mecanismo de liberação do fármaco a partir da matriz polimérica. Por fim, as técnicas termoanalíticas e espectroscópicas permitiram a avaliação de parâmetros físico-químicos relacionados às interações entre os componentes utilizados, o perfil de cristalinidade e amorfismo, além da elucidação estrutural de grupos funcionais importantes. Essas técnicas demonstraram que o sistema apresenta adequação para a finalidade proposta.

## 5. CONSIDERAÇÕES FINAIS

Devido à pandemia causada pelo o vírus Sars-CoV-2 com a necessidade de cumprimento de normas sanitárias para barrar a propagação da COVID-19, a continuidade da pesquisa ficou impossibilitada. Ressalto que o projeto ainda ambiciona viabilizar o desenvolvimento dos filmes a partir do acetato de celulose extraído da celulose da palma forrageira para incorporação da JR19, e com isso, realizar um estudo comparativo entre as características físico-químicas, o perfil de liberação e ensaio de citotoxicidade *in vitro* das membranas.

## REFERENCIAL BIBLIOGRÁFICO

APOLINÁRIO, N. M. **Elucidação estrutural e avaliação do potencial biológico de novos derivados N-acilhidrazônicos**. 2016. 114p. Dissertação (Mestrado em Ciências Farmacêuticas) – Centro de Ciências Biológicas e da Saúde, Universidade Estadual da Paraíba, Campina Grande, 2016.

BANO, I.; GHOURI, M. A.; YASIN, T.; HUANG, O.; PALAPARTHI, A. S. Characterization and potential applications of gamma irradiated chitosan and its blends with poly(vinyl alcohol). **International Journal of Biological Macromolecules**, Amsterdam, v. 65. p. 81-88, 2014.

BIAŁOPIOTROWICZ, B. J The wettability of a cellulose acetate membrane in the presence of bovine serum albumin. **Appl.Surface Sci.** 201, p. 146-153, 2002.

BRASIL, RE Nº 166 de 24 de julho de 2017. O adjunto da diretoria colegiada da Agência Nacional de Vigilância Sanitária estabelece o **Guia para Validação de Métodos Analíticos e Bionalíticos**. Diário Oficial da União, Brasília, 24 jul. 2017.

BORGES, M. F. **Desenvolvimento de membranas de acetato de celulose incorporadas com aditivos funcionais para tratamentos regenerativos periodontais**. 2018.

CALLISTER, W.D. *Materials Science and Engineering- An Introduction*. 7ª ed, New York, John Wiley and Sons, p. 721, 2007.

DEVI, N.; DUTTA, J. Preparation and characterization of chitosan bentonitenanocomposite films for wound healing application. **International Journal of Biological Macromolecules**, New York, v. 104, p. 1897-1904, 2017.

EDGAR, K. J. Cellulose esters in drug delivery. **Cellulose**, London, v. 14, n. 1, p. 49-64, 2007.

EVANS, N. D. et al. Epithelial mechanobiology, skin wound healing, and the stem cell niche. **Journal of the mechanical behavior of biomedical materials**, Amsterdam, v. 28, p. 397-409, 2013.

FRAGA, A. F. et al. , Ensaio de membranas de quitosana recobertas com hidroxiapatita: efeito da adição de hidróxido de sódio. In: Congresso Brasileiro de Engenharia e Ciência dos Materiais, 2006, Foz do Iguaçu, **Anais...** Foz de Iguaçu : IPEN, p. 2715-2725, 2006.

FERREIRA JÚNIOR, M. F. Reciclagem química do bagaço de cana-de-açúcar para a produção de membranas assimétricas de diacetato de celulose. 2009.

FERREIRA, M. V. **Produção de membranas de acetato de celulose simétricas e assimétricas para aplicação na liberação dos fármacos ibuprofeno e naproxeno**. Dissertação (mestrado) - Universidade Federal de Uberlândia, Programa de Pós-Graduação em Química, 2019.

- FREITAS, R. R. M.; SENNA, A. M.; BOTARO, V. R. Influence of degree of substitution on thermal dynamic mechanical and physicochemical properties of cellulose acetate. **Industrial crops and products**, 109: 452-458, 2017.
- FISCHER, K. S.; THÜMMLER, B.; VOLKERT, K.; HETTRICH, I.; SCHMIDT, K. F. Properties and applications of cellulose acetate. **Macromol. Symposia**, p. 89-96, , 2008.
- GEORGE, B.; SUCHITHRA, T. V. Plant-derived bioadhesives for wound dressing and drug delivery system. **Fitoterapia**, 104241, 2019.
- GOY, R. C., ASSIS, O. B. G., CAMPANA-FILHO, S. P. Produções de esferas de quitosana. **Revista Biotecnologia Ciência e Desenvolvimento**, Ed. nº 33 julho/dezembro, 2004.
- KHATRI, P. Role of plasticizer in membrane coated extended release oral drug delivery system. **Journal of Drug Delivery Science and Technology**, 44: 231-243, 2018.
- KENDOULI, S. O.; KHALFALLAH, N.; SOBTI, A. B.; AVCI, V.; ESKIZEYBEK, S. Modification of cellulose acetate nanofibers with PVP/Ag addition. *Materials Science in Semiconductor Processing Int. Semicond. Sci. Technol. Conf. ISSTC-2014*, 28, pp. 13-19, 2014.
- KE, H.; PANG, Z.; PENG, B.; WANG, J.; CAI, Y.; HUANG, F.; WEI, Q. Thermal energy storage and retrieval properties of form-stable phase change nanofibrous mats based on ternary fatty acid eutectics/polyacrylonitrile composite by magnetron sputtering of silver. **Journal of Thermal Analysis and Calorimetry**, Amsterdam, v. 123, p. 1293-1307, 2016.
- KONNOLA, R.; NAIR, C. P. R.; JOSEPH, K. Cross-linking of carboxyl-terminated nitrile rubber with polyhedral oligomeric silsesquioxane. **Journal of Thermal Analysis and Calorimetry**, Amsterdam, v. 123, p. 1479-1489, 2015.
- KOUCHAK, M.; HANDALI, S.; BOROUJENI, B. N. Evaluation of the Mechanical Properties and Drug Permeability of Chitosan/Eudragit RL Composite Film. **Public Health and Research Perspectives**, Burlington, v. 6, n. 1, p. 14-19, 2015.
- LEUNER, C., DRESSMAN, J., Improving drug solubility for oral delivery using solid dispersions (Review Article). **European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics**, v. 50, n.1, p.47-60, 2000.
- LIEBERT, T. Cellulose solvents – remarkable history. **Bright Future**, 1033, p. 3-54, 2010.
- LIU, H., ADHIKARI, R., GUO, Q., & ADHIKARI, B. Preparation and characterization of glycerol plasticized (high-amylose) starch–chitosan films. **Journal of Food Engineering**, 116, p. 588–597, 2013.
- MELO, P. G. **Estudo das propriedades físico-químicas de membranas de acetato de celulose/glicerol incorporadas com aditivos de lignina extraída do endocarpo da Macaúba (Acrocomia aculeata) e seus derivados modificados quimicamente**. Tese de Doutorado, Universidade Federal de Uberlândia. Programa de Pós-Graduação em Química, 2015, 146 p

MEIRELES, S. C.; RODRIGUES FILHO, G.; FERREIRA JR, M. F.; CERQUEIRA, D. A.; ASSUNÇÃO, R. M. N.; RIBEIRO, E. A. M.; ZENI, M. Characterization of asymmetric membranes of cellulose acetate from biomass: Newspaper and mango seed. **Carbohydrate polymers**, 80(3), 954-961, 2010.

MORAES, A. D. T. O.; MIRANDA, M. D. S.; JACOB, I. T. T.; AMORIM, C. A. C.; MOURA, R. O. M.; SILVA, S. A. S.; SOARES, M. B. P.; ALMEIDA, S. M. V.; SOUZA, T. R. C. L.; OLIVEIRA, J. F.; SILVA, T. G.; MELO, C. M. L.; MOREIRA, D. R. M.; LIMA, M. C. A. L. Synthesis and *in vivo* biological evaluation, COX-1/2 inhibition and molecular docking study of indole-*N*-acylhydrazone derivatives. **Bioorganic & Medicinal Chemistry**, Oxford, 2018.

MOSTAFA, A. A.; FARAG, H. M.; ABO-DIEF, A. M.; TAYEB. Production of biodegradable plastic from agricultural wastes. **Arabian J. Chem**, 2015.

MOURA, L. I. F.; DIAS, A. M. A.; CARVALHO, E.; SOUSA, H. C. Recent advances on the development of wound dressings for diabetic foot ulcer treatment- a review. **Acta Biomaterialia**, Amsterdam, v. 9, n. 7, p. 7093-7114, 2013.

PANDEY, M. K.; KHAN, A. R.; SAXENA, A. K. Synthesis and thermal analysis of phosphonitrile-core-bearing aromatic nitriles for high-temperature applications. **Journal of Thermal Analysis and Calorimetry**, Amsterdam, v. 129, p. 1453-1462, 2017.

PILLAI, O; PANCHAGNULA, R. Polymers in drug delivery. **Current opinion in chemical biology**, 5.4: 447-451, 2001.

PRAJAPATI, S, K. Biodegradable polymers and constructs: a novel approach in drug delivery. **European Polymer Journal**, 2019.

PULS, J.; WILSON, D. H. Degradação de materiais à base de acetato de celulose: uma revisão. **J. Polym. Environ.** 19, pp. 152 – 165, 2010.

REIS, F. V. **Comportamento de tensão-deformação de filmes poliméricos produzidos de triacetato de celulose obtido através da palha de milho Zea mays**. 35f. 2019.

SANTANA, A. K. M.; NUNES, L. C. C.; MEDEIROS, F. P. M.; SILVA, M. J.; LAVRA, Z. M. M.; ROLIM-NETO, P. J. Otimização e validação do método analítico volumétrico para quantificação do carbonato de cálcio. **Revista de Ciências Farmacêuticas Básica e Aplicada**, 28(2), 177-183, 2009.

SASIKALA, L., DURAI, B., RATHINAMOORTHY, R. Manuka honey loaded chitosan hydrogel films for wound dressing applications. **International Journal of Pharm Tech Research**, Mumbai, v. 5, n. 4, p. 1774-1785, 2013.

SOUSA, W. J. B.; BRITO, F. P.; JUNIOR, A. G. B.; BARBOSA, R. C.; FOOK, M. V. L.; TOMAZ, A. F.; GARCIA, T. G. Obtenção e avaliação de filmes de gelatina/quitosana para liberação sublingual de midazolam. **Revista Eletrônica de Materiais e Processos**, 13(1), 2018.

SHAIKH, H. M.. Utilization of sugarcane bagasse cellulose for producing cellulose acetates: Novel use of residual hemicellulose as plasticizer. **Carbohydrate Polymers**, 76.1: 23-29, 2009.

SILVA, Cristiane Aparecida da, et al. Híbridos de acetato de celulose e polissiloxanos: preparação, propriedades e morfologia. 2005.

SILVA, Natan. **Filmes poliméricos de quitosana com sinvastatina para inflamações cutâneas**. 2015. 108f. Dissertação (Mestrado em Ciências Farmacêuticas) – Centro de Ciências Biológicas e da Saúde, Universidade Estadual da Paraíba, Campina Grande, 2015.

SENNA, André M.; MENEZES, Aparecido J. de; BOTARO, Vagner R. Estudo da densidade de ligações Cruzadas em géis superabsorventes obtidos do acetato de celulose. **Polímeros**, 23.1: 59-64, 2013.

SZWED, D. N.; SANTOS, V. L. P. Fatores de crescimento envolvidos na cicatrização de pele. **Cadernos da Escola de Saúde**, [Curitiba], v. 1, n. 15, p. 7-17, 2015.

TANAKA, S.; IWATA, T.; IJI, M. Long/Short Chain Mixed Cellulose Esters: Effects of Long Acyl Chain Structures on Mechanical and Thermal Properties. **ACS Sustainable Chemistry & Engineering**, 5.2: 1485-1493, 2017.

THAKRAL, N. K.; ZANON, R. L.; KELLY, R. C.; THAKRAL, S. Applications of powder X-ray diffraction in small molecule pharmaceuticals: achievements and aspirations. **Journal of pharmaceutical sciences**, 107(12), 2969-2982, 2018.

TEDESCHI, G.; GUZMAN-PUYOL, S.; PAUL, U. C.; BARTHEL, M. J.; GOLDONI, L.; CAPUTO, G. Thermoplastic cellulose acetate oleate films with high barrier properties and ductile behaviour. **Chemical Engineering Journal**, **Chemical Engineering Journal**, 348, 840-849, 2018.

WANDERLEY, D. M. S. **Filmes poliméricos de quitosana com um derivados N-acilhidrazônico para tratar lesões cutâneas**. 2019 95p. Dissertação (Mestrado em Ciências Farmacêuticas) – Centro de Ciências Biológicas e da Saúde, Universidade Estadual da Paraíba, Campina Grande, 2019.

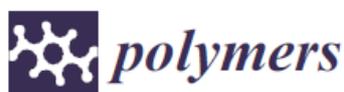
WANDERLEY, D. M.; MELO, D. F.; SILVA, L. M.; SILVA, W. C.; CORREIA, L. P.; OSHIRO-JUNIOR, J. A.; FOOK, M. V. L.; MOURA, R. O.; LIMA, R. S. C.; DAMASCENO, B. P. G. L. Physical–chemical characterization of N-acylhydrazone derivative chitosan films using spectroscopic and thermoanalytical techniques. **Journal of Thermal Analysis and Calorimetry**, 1-8, 2019.

WOJNAROWSKA, Z. et al. Study of the Amorphous Glibenclamide Drug: Analysis of the Molecular Dynamics of Quenched and Cryomilled Material. **Molecular Pharmaceutics**, v. 7, n.5, p.1692–1707, 2010

WIEGAND, C.; HIPLER, U. Polymer-based biomaterials as dressings for chronic stagnating wounds. **Macromolecular Symposia**, Weinheim, v. 294, n. 2, p. 1-13, 2010.

## APÊNDICE I

ARTIGO DO PROCESSO EXTRATIVO DA CELULOSE PUBLICADO NA  
REVISTA *POLYMERS*.



Article

## ***Opuntia Ficus-Indica* L. Miller (Palma Forrageira) as an Alternative Source of Cellulose for Production of Pharmaceutical Dosage Forms and Biomaterials: Extraction and Characterization**

Amaro César Lima de Assis <sup>1,2</sup>, Larissa Pereira Alves <sup>1,2</sup>, João Paulo Tavares Malheiro <sup>1,2</sup>,  
Alana Rafaela Albuquerque Barros <sup>1,2</sup>, Edvânia Emannelle Pinheiro-Santos <sup>2</sup>,  
Eduardo Pereira de Azevedo <sup>3</sup>, Harley da Silva Alves <sup>1</sup> , João Augusto Oshiro-Junior <sup>1,2,\*</sup>   
and Bolívar Ponciano Goulart de Lima Damasceno <sup>1,2,\*</sup> 

<sup>1</sup> Graduate Program of Pharmaceutical Sciences, State University of Paraíba,  
Campina Grande 58429-500—PB, Brazil

<sup>2</sup> Laboratory of Development and Characterization of Pharmaceutical Products, Department of Pharmacy,  
State University of Paraíba, Campina Grande 58429-500—PB, Brazil

<sup>3</sup> Graduate Program of Biotechnology, Laureate International Universities—Universidade Potiguar,  
Natal 59056-000—RN, Brazil

\* Correspondence: joaooshiro@yahoo.com.br (J.A.O.-J.); bolivarpagd@hotmail.com (B.P.G.d.L.D.);  
Tel.: +55-83-3315-3300 (ext. 3516) (B.P.G.d.L.D.)

Received: 19 April 2019; Accepted: 28 June 2019; Published: 2 July 2019

