



UEPB

Universidade
Estadual da Paraíba

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

VANDIARA MARTINS MOREIRA

**DESENVOLVIMENTO E AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE ANTI-INFLAMATÓRIA
DE FILMES POLIMÉRICOS DE QUITOSANA CONTENDO PENTOXIFILINA
PARA USO TÓPICO**

**CAMPINA GRANDE - PB
2018**

VANDIARA MARTINS MOREIRA

**DESENVOLVIMENTO E AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE ANTI-INFLAMATÓRIA
DE FILMES POLIMÉRICOS DE QUITOSANA CONTENDO PENTOXIFILINA
PARA USO TÓPICO.**

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

Orientador: Prof. Dr. Bolívar Ponciano Goulart de Lima Damasceno
Coorientador: Prof. Dr. João Walter de Souza da Silveira

CAMPINA GRANDE – PB
2018

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.

M838d Moreira, Vandiar Martins.
Desenvolvimento e avaliação da atividade anti-inflamatória de filmes poliméricos de quitosana contendo pentoxifilina para uso tópico [manuscrito] / Vandiar Martins Moreira. - 2018.
95 p. : il. colorido.
Digitado.
Dissertação (Mestrado em Ciências Farmacêuticas) - Universidade Estadual da Paraíba, Centro de Ciências Biológicas e da Saúde, 2019.
"Orientação : Prof. Dr. Bolívar Ponciano Goulart de Lima Damasceno, Coordenação do Curso de Farmácia - CCBS."
"Coorientação: Prof. Dr. João Walter de Souza da Silveira, Coordenação do Curso de Farmácia - CCBS."
1. Atividade anti-inflamatória. 2. Filmes poliméricos. 3. Quitosana. 4. Pentoxifilina. I. Título

21. ed. CDD 615.1

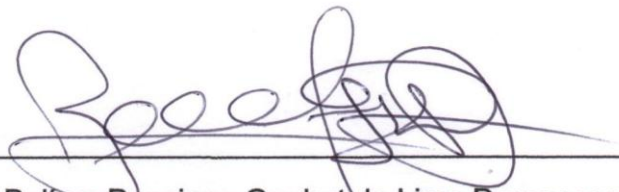
VANDIARA MARTINS MOREIRA

**DESENVOLVIMENTO E AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE ANTI-INFLAMATÓRIA
DE FILMES POLIMÉRICOS DE QUITOSANA CONTENDO PENTOXIFILINA
PARA USO TÓPICO**

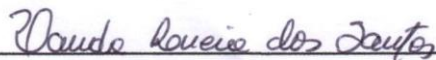
Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciências Farmacêuticas da Universidade Estadual da Paraíba – UEPB, como requisito parcial à obtenção do título de Mestre em Ciências Farmacêuticas.

Aprovada em: 14 / 09 / 2018

BANCA EXAMINADORA:



Prof. Dr. Bolívar Ponciano Goulart de Lima Damasceno
Departamento de Farmácia/UEPB
Orientador



Prof.ª Dr.ª Vanda Lúcia dos Santos
Examinadora interna - UEPB



Prof. Dr. Adley Antonini Neves de Lima
Examinador externo - UFRN

VANDIARA MARTINS MOREIRA

DEDICATÓRIA

À memória de meus avós Valdenor Mamede dos Santos e Maria Ribeiro da Silva que realizaram sua viagem no decorrer deste trabalho deixando seus ensinamentos acompanhados de muita saudade, DEDICO.

AGRADECIMENTOS

A Deus por me conceder a vida e me sustentar em meio às dificuldades e tribulações, tornando-me mais forte. Por me permitir ser o pilar dos meus, quando tudo à minha volta parece desmoronar e ainda assim me surpreendendo com as oportunidades concebidas e me mostrando que os planos dele em minha vida são maiores e melhores que meus sonhos. Por me permitir estar dando mais esse passo em minha vida profissional, que será o cultivo de futuros doces frutos.

Obrigada Deus, por me capacitar, me dar responsabilidades, e me permitir crescer a cada dia.

Aos meus pais Maria Socorro Martins e José Vanísio Moreira por todo amor durante toda minha vida, pelo apoio, incentivo e confiabilidade em todas as decisões que fiz. Sem vocês essa caminhada teria sido mais árdua. A vocês, e por vocês o motivo de todo o esforço diário e cada conquista alcançada. Amo vocês imensuravelmente.

A Vândina Martins e José Vanísio Júnior, pelo companheirismo, de toda uma vida, pelo amor que mesmo longe supera qualquer dificuldade, pelo apoio de sempre. Eu amo vocês!

Ao meu orientador Bolívar Damasceno, por me confiar este projeto, pela parceria de sempre, pelas orientações, ensinamentos, e até pelas brincadeiras conversas que ajudaram a descontrair nesta jornada. Parabéns pelo grande profissional que é, com certeza sairei deste mestrado com outros olhos, e com uma bela bagagem de conhecimento acumulado. Obrigada pela paciência e compreensão a cada momento de dificuldade neste mestrado.

Ao meu co-orientador João Walter, pelo conhecimento repassado durante este trabalho e as aulas, pelo apoio e parceria na execução deste projeto, pelo auxílio a cada dúvida e ideia sobre o estudo in vivo.

Ao meu esposo Érick Tássio Barbosa Neves por toda a paciência, otimismo, e incentivo quando as coisas pareciam difíceis neste mestrado, pelo amor e companheirismo de sempre. Te conhecer também foi uma das melhores coisas que a UEPB me proporcionou.

As minhas amigas de sala Camila Melo, Fernanda Nóbrega, Laisla Rangel, Luana e Fernanda Almeida, pelo apoio comunitário, companheirismo,

conhecimento e angústias compartilhadas, pelas dificuldades que enfrentamos e superamos juntas, pela amizade que segue além das portas desta universidade.

Aos meus IC's Joyce, Felipe e Emile por toda a parceria, pelas horas de trabalho no laboratório dedicado ao resultado deste projeto, que foram exercidas com muita responsabilidade e entrega, por todas as horas compartilhando conhecimento, dúvidas, e um pouco sobre a vida de cada um. Espero ter contribuído na vida de cada um como pessoa e como profissional.

A Lívia e Lucas pela disponibilidade de sempre, pelo interesse neste projeto e por terem me ajudado na ausência de meus ic's.

A Larissa Pereira, pela paciência e companhia nas longas noites em claro na execução do estudo *in vitro*, pelas conversas que ajudavam o tempo a passar e pela hospedagem de mini horas.

A Malu Reis, por toda a amizade de velhos anos, pelas brincadeiras, discursões do mundo científico, pelo auxílio e dedicação ao me ajudar com as análises de caracterização e estudo de liberação.

A KarolMoangela, pelo o otimismo, a confiança e a torcida desde a seleção deste mestrado. Pela amizade, e auxílio na caracterização deste projeto.

A Davidson Wanderley, pelas dúvidas e questionamentos em nossas conversas sobre filmes e pela parceria na execução deste trabalho.

A Dilma Alcântara pela paciência, consolo, conselho e auxílio nos momentos de tensão deste mestrado. Você foi mais uma amiga que o mestrado me concebeu.

A Kleilton Santana pela paciência e disponibilidade para a realização da caracterização.

A Bruna Pereira e Yargo Araújo pelo auxílio no início deste mestrado.

A professora Dra. Vanda Lúcia e ao professor Dr. Adley Antonini por aceitarem meu convite para contribuir e enriquecer meu trabalho através de suas considerações que serão de grande valia, e por compor minha banca de avaliação.

Por fim, obrigada a todos que de alguma forma contribuíram para a realização deste trabalho.

RESUMO

Filmes representam um significativo sistema para a entrega de fármacos, permitindo o carregamento destes e os liberando no sítio alvo. A pentoxifilina é um potente vasodilatador que reporta efeitos pleiotrópicos como a atividade anti-inflamatória. O objetivo deste trabalho foi desenvolver, caracterizar e avaliar a atividade anti-inflamatória de filmes de quitosana contendo pentoxifilina para uso tópico. Para o desenvolvimento dos filmes, adotou-se o método sol-gel, preparando solução de quitosana 1% e solução de pentoxifilina (10 e 20mg/mL). Estes foram adicionados em placas de Petri e submetidos à homogeneização e secagem em estufa, formando os filmes. Os filmes foram caracterizados por Infravermelho por Transformada de *Fourrier*(FTIR), Difração de Raio-X (DRX), Termogravimetria (TG), Calorimetria Diferencial Exploratória (DSC) e Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV). Avaliou-se o perfil de liberação da pentoxifilina a partir deste sistema e realizou-se o estudo *in vivo* para avaliar a atividade anti-inflamatória e possível atividade antimicrobiana. A coloração dos filmes variou do transparente (Filme branco - FBr) ao amarelo leitoso (F1 e F2). Na caracterização em FTIR, F1 e F2 apresentaram bandas características da pentoxifilina e da quitosana; no FBr apresentou bandas características da quitosana. No DRX a pentoxifilina mostrou perfil cristalino, F1 e F2 parcialmente amorfo e FBR totalmente amorfo. No DSC a pentoxifilina apresentou pico endotérmico em 105,11 °C e a quitosana pico endotérmico em 96,12 °C e exotérmico em 306,29 °C. A mistura física de pós mostrou picos endotérmicos em 88,55 °C e 134,78 °C e exotérmico em 308,15 °C. F1 apresentou pico endotérmico em 118,69 °C e exotérmico em 285,59 °C. F2 apresentou picos endotérmicos em 78,07 °C e 122,05 °C e exotérmico em 286,73 °C. No MEV, a pentoxifilina apresentou morfologia heterogênea, os filmes F1 e F2 apresentaram morfologia homogênea confirmando a encapsulação no sistema. O estudo de liberação *in vitro* dos filmes seguiu o modelo cinético de Higuchi, com liberação de 82 e 88 % para F1 e F2, respectivamente, apresentando uma liberação controlada e a formação de um platô. No estudo *in vivo*, o grupo tratado com F2 apresentou diferença significativa na cicatrização no dia 4 em relação a todos os demais grupos e no dia 6 em relação aos grupos FBr, F1, e pomada (betametasona+ gentamicina). No 9º dia de tratamento o grupo tratado com F2 apresentou o fechamento completo da lesão enquanto os demais grupos apresentaram a lesão em cerca de 20% do tamanho inicial. No estudo microbiológico, no tratamento com FBr foi possível observar que *Enterobactergergoviae*, *Citrobacterfreundii* e *Escherichia coli* foram inibidos, porém *Staphylococcus aureus* e *Hafnia alvei* estavam presentes em um camundongo. No grupo tratado com F2 houve a inibição de *Enterobacter aerogenes* e *Escherichia coli*, e inibição de *Staphylococcus aureus* em apenas um animal. Assim, os filmes desenvolvidos neste estudo apresentaram eficiente encapsulação do fármaco no sistema e um perfil de liberação bastante interessante, além demonstraram-se bastante promissores para aceleração no processo cicatricial de lesões, devido sua atividade anti-inflamatória comprovada no estudo *in vivo*, e uma satisfatória atividade frente as cepas de bactérias que colonizaram a lesão.

Palavras chave: Filmes, quitosana, pentoxifilina.

ABSTRACT

Films are an important system to distribute medicines. They allow these substances to be carried and liberated at the target site. Pentoxifylline is a potent vasodilator that reports pleiotropic effects as anti-inflammatory activity. The aim of this study was to develop, characterize and evaluate the anti-inflammatory activity of chitosan films containing Pentoxifylline for topical use. The sol-gel method was used to produce the films and prepare a chitosan 1% solution with pentoxifylline (10 and 20 mg/mL). The solution was added in Petri dishes and subjected to homogenization and drying in an oven, resulting in the films. The films were characterized by Fourier transform infrared (FTIR), X-ray Diffraction (XRD), Thermogravimetry (TG), Differential Scanning Calorimetry (DSC) Exploratory and scanning electron microscopy (SEM). The release profile of Pentoxifylline from this system was assessed and the in vivo study was conducted to evaluate the anti-inflammatory activity and possible antimicrobial activity of the films. The color of the films ranged from transparent (FBr) to milky yellow (F1 and F2). In the characterization in FTIR, F1 and F2 presented bands characteristics of Pentoxifylline and Chitosan; similar bands of the FBr presented Chitosan. In the DRX, Pentoxifylline showed a crystalline profile, F1 and F2 were partially amorphous, while FBr behaved completely amorphous. In the DSC, pentoxifylline presented an endothermic peak at 105.11° C and Chitosan presented an endothermic peak at 96.12° C and an exothermic at 306.29° c. The physical mixture of powder has shown endothermic peaks at 88.55 °C and 134.78°C and an exothermic peak at 308.15°c. F1 presented an endothermic peak at 118.69° C and an exothermic peak at 285.59° c. F2 presented endothermic peaks at 78.07° C and 122.05° C and an exothermic peak at 286.73°c. In the SEM, the Pentoxifylline presented a heterogeneous morphology. F1 and F2 movies showed homogeneous morphology and could confirm the encapsulation in the system. The in vitro release study of films followed the kinetic model of Higuchi. The films released F1 (82%) and F2 (88%) at the end of the study, showing a controlled release and the formation of a plateau. In the in vivo study, the animals treated with F2 showed a significant difference in healing at the day 4 for all other groups. On the 6th day, it was observed a significant difference in relation to F2 compared to the FBr, F1, and ointment. The ointment group presented a different profile from other treatments and a difference in the healing process during all days of the study. On the 9th day of treatment, the group treated with F2 complete closure of the lesion presented while the remaining groups presented the injury in about 20% of the original size. The microbiological study, treatment with FBr was possible to observe that *Enterobactergergoviae*, *Citrobacterfreundii* *Escherichia coli* were inhibited, but *Staphylococcus aureus* and *Hafnia alvei* were present in a mouse. In the group treated with F2 there was inhibition of *Escherichia coli* *Enterobacteraerogenese* and *Staphylococcus aureus* inhibition in just one animal. Thus, the present study developed films present efficient encapsulation of the drug in the system, and a very interesting release profile, as well as demonstrated very promising for acceleration in the healing process of injuries, because your proven anti-inflammatory activity in vivo study, and a satisfactory activity front the strains of bacteria that colonized the lesion.

Key words: Inflammation, films, chitosan, pentoxifylline.

Lista de Figuras

Figura 1 - Estrutura e camadas da pele.....	17
Figura 2 - Comparativo entre tipos de formas farmacêuticas com base na absorção.....	19
Figura 3 -Estrutura da quitina e da quitosana.....	26
Figura 4 -Estrutura da Pentoxifilina em 2D.....	27
Figura 5 -Protocolo desenvolvido para o teste <i>in vivo</i>	41
Figura 6 -Protocolo desenvolvido para análise da atividade antimicrobiana in vivo	43
Figura 7 -Filmes desenvolvidos neste estudo.....	45
Figura 8 - Espectro de infravermelho por transformada de <i>Fourier</i> dos filmes.....	47
Figura 9 -Espectro de infravermelho da pentoxifilina.....	47
Figura 10 -Difratograma de Raios-x da pentoxifilina, dos filmes e da quitosana.....	51
Figura 11 -Análise termogravimétrica da pentoxifilina e dos filmes.....	54
Figura 12 - Calorimetria Diferencial Exploratória (DSC) da pentoxifilina, quitosana, mistura de pós e dos filmes	56
Figura 13 - Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV)	58
Figura 14 -Perfil de liberação da pentoxifilina ($\mu\text{g}/\text{cm}^2$) a partir do filme F1 (10mg) e F2 (20 mg) em relação ao tempo (h).....	63
Figura 15 -Modelos cinéticos empregados ao perfil de liberação de pentoxifilina dos filmes poliméricos F1 (10mg)	64
Figura 16 -Modelos cinéticos empregados ao perfil de liberação de pentoxifilina dos filmes poliméricos F2 (20mg)	65
Figura 17 -Avaliação do tamanho das feridas cutâneas em relação ao dia 2 após a lesão	68
Figura 18 -Imagens das lesões nos dias 2,4,6 e 9 após o desencadeamento da lesão	70

Lista de Tabelas

Tabela 1 – Tratamento utilizado nos diferentes grupos no período de 14 dias..	42
Tabela 2 - Absorbância referente aos picos encontrado e seus respectivos grupos funcionais.....	49
Tabela 3 –Representação numérica dos valores de perdas de massa em cada fase.....	55
Tabela 4 -Quantidade de PTX liberada acumulada($\mu\text{g}/\text{cm}^2$) e porcentagem da quantidade liberada(%) nos respectivos períodos de coleta(h) dos filmes F1 (10mg).....	62
Tabela 5 - Quantidade de PTX liberada acumulada ($\mu\text{g}/\text{cm}^2$) e porcentagem da quantidade liberada (%) nos respectivos períodos de coleta (h) nos filmes F2 (20mg).....	63
Tabela 6 -Coeficiente de correlação linear como fator determinante para a escolha da ordem de liberação da PENT a partir do filme F1 (10mg).....	67
Tabela 7 -Coeficiente de correlação linear como fator determinante para a escolha da ordem de liberação da PENT a partir do filme F2 (20mg).....	68
Tabela 8 –Bactérias encontradas nas feridas tratadas com FBr nas três coletas.....	73
Tabela 9 –Bactérias encontradas nas feridas tratadas com F2 nas três coletas.....	74
Tabela 10 –Bactérias encontradas nas feridas tratadas com salina (controle negativo) nas três coletas.....	74

LISTA DE ABREVIATURAS

°C	Grau Celsius
µL	Microlitro
2D	2 dimensões
3D	3 dimensões
AINES	Anti-inflamatórios não esteroidais
AMP^c	Adenosina monofosfato cíclico
cm	Centímetro
Cm²	Centímetro ao quadrado
COX-1	Cicloxigenase 1
COX-2	Cicloxigenase 2
COX-3	Cicloxigenase 3
DL₅₀	Dose Letal Mediana
DRX	Difração de Raio- X
DSC	Módulo Calorímetro Exploratório Diferencial
F1	Filme 1 (10mg)
F2	Filme 2 (20mg)
FBr	Filme Branco
FTIR	Infravermelho por Transformada de Fourier
IL-1	Interleucina 1
IL-1β	Interleucina 1β
IL-8	Interleucina 8
Kg	Quilograma
logP	Coefficiente de Partição
LOX	Lipoxigenase
M	Molar
MEV	Microscopia Eletrônica de Varredura
mg	Miligrama
min	Minuto
mL	Mililitro
PENT	Pentoxifilina
pH	Potencial Hidrogeniônico
pka	Constante de Ionização
QUIT	Quitossana
RPM	Rotação por Minuto
TG	Termogravimetria
Th1	T-helper 1
Th2	T-helper 2
TNF- α	Fator de Necrose Tumoral α
UV-Vis	Ultravioleta Visível

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	12
2 REFERENCIAL TEÓRICO	15
2.1 Pele	16
2.2 A administração de fármacos através da pele	18
2.3 Processo Inflamatório	20
2.4 Novos Sistemas de liberação de fármacos	23
2.4.1 Filmes para uso tópico	24
2.5 Quitosana	25
2.6 Pentoxifilina	26
2.7 Ensaio de Liberação de Fármacos	29
3 OBJETIVOS	33
3.1 Objetivo geral	34
3.2 Objetivos Específicos	34
4 MATERIAIS E MÉTODOS	36
4.1 Materiais	37
4.2 Desenvolvimento dos Filmes	38
4.3 Caracterização	38
4.3.1 Caracterização Físico-Química	38
4.3.1.1 <i>Espectroscopia de Absorção ao Vibracional na Região Infravermelho por Transformada de Fourier (FTIR)</i>	38
4.3.1.2 <i>Difração de Raios-X (DRX)</i>	38
4.3.2 Análise Térmica	38
4.3.2.1 Análise Termogravimétrica (TG)	39
4.3.2.2 Calorimetria Diferencial Exploratória (DSC)	39
4.3.3 Estudo Morfológico	39
4.3.3.1 Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV)	39
4.4 Ensaio de liberação da pentoxifilina a partir dos filmes	39
4.5 Estudo de atividade <i>in vivo</i> dos filmes poliméricos de pentoxifilina	40
4.5.1 Feridas cutâneas	40

4.5.2 Grupos e tratamentos	40
4.5.3 Avaliação das feridas cutâneas	42
4.5.3.1 Aspectos clínicos das feridas cutâneas	42
4.5.3.2 Análise morfométrica das feridas cutâneas	42
4.5.3.3 Análise estatística	43
4.6 Análise microbiológica das feridas cutâneas	43
5 RESULTADOS E DISCUSSÃO	45
5.1 Desenvolvimento dos Filmes	46
5.2 Caracterização Físico-Química	47
5.2.1 Análise de Infravermelho por Transformada de Fourier	47
5.2.2 Difração de Raio-x	51
5.3 Análise Térmica	54
5.3.1 Termogravimetria (TG)	54
5.3.2 Calorimetria Diferencial Exploratória (DSC)	56
5.4 Estudo Morfológico	59
5.4.1 Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV)	59
5.5 Estudo de liberação in vitro de pentoxifilina incorporada em filmes	61
5.6 Estudo in Vivo	69
5.6.1 Análise Morfométrica das Feridas Cutâneas	69
5.6.2 Estudo Microbiológico	73
6 CONSIDERAÇÕES FINAIS	788
7 REFERÊNCIAS	81
ANEXO	95

Introdução

1. INTRODUÇÃO

A expectativa de vida humana aumentou proporcionalmente à melhoria dos cuidados médicos e desenvolvimento de novas terapias medicamentosas (PIOTROWSKA et al., 2018). Nas últimas décadas surgiram inovações biomédicas substanciais para o tratamento de lesões cutâneas, onde muitos avanços foram obtidos por meio da exploração das propriedades de novos biomateriais poliméricos (PATEL et al., 2018). Entre estes biomateriais oriundos de polímeros se encontra os curativos como auxílio no aceleração do processo cicatricial de lesões cutâneas.

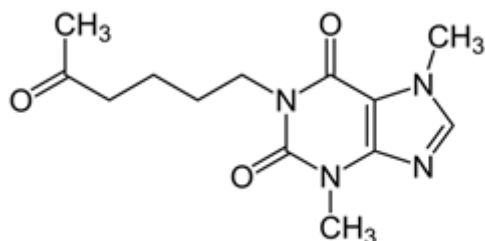
O uso de curativo é tradicionalmente utilizado no tratamento de lesões cutâneas e a escolha do material que o constitui é essencial no processo da cicatrização (PATEL, et al., 2018; PIRES et al., 2018; TAMER et al., 2018). Atualmente, há um interesse crescente no uso de polímeros como materiais para fabricação de curativos na forma de filmes (ESCÁREGA-GALAZ et al., 2018). Estes sistemas consistem em uma tecnologia de liberação de fármacos que apresenta vários benefícios em relação às clássicas formas farmacêuticas. Eles permitem a liberação controlada do fármaco, prolongamento dos efeitos terapêuticos, aumento da biodisponibilidade, tratamento com boa relação custo-benefício e melhora na adesão do paciente (WAYS, LAU, KHUTORYANSKIY, 2018).

Vários polímeros têm sido investigados para o desenvolvimento de filmes destinados ao tratamento de lesões cutâneas. Entre eles, a quitosana (QUIT), polissacarídeo de origem natural, constituído por unidades D – glucosamina e N - acetil-D-glucosamina, unidas por ligações glicosídicas β -(1-4) (SIZÍLIO et al., 2018). Diversos estudos têm demonstrado o seu potencial no tratamento de feridas, objetivando auxílio no processo cicatricial (HU et al., 2018; XIE et al., 2018; ASFOUR et al., 2017). Além de sua excelente capacidade de formação de filmes, possui propriedades bioquímicas que aumentam a cicatrização, como biocompatibilidade, ausência de toxicidade, promove renegeração tecidual e apresenta atividade antimicrobiana, hemostática e anti-inflamatória (KILICARSLAN, et al., 2018).

A pentoxifilina (PXT), nomeada de 3,7-dimetil-1-(5-oxo-hexil)-3,7-di-hidro-1H-purina-2,6-diona (Fig. 1), é um derivado sintético da metilxantina que tem demonstrado atividade anti-inflamatória. Ela pode ser administrada por via oral ou intravenosa, porém apresenta baixa biodisponibilidade, há relatos de efeitos colaterais que incluem o trato gastrointestinal e o sistema nervoso central e métodos invasivos têm menor adesão do

paciente (CAVALCANTI et al., 2016). Apresenta quatro principais ações: aumento da deformidade dos eritrócitos, redução da viscosidade do sangue, inibição da proliferação de fibroblastos da pele e da produção de matrizes extracelulares e aumento da atividade da colagenase (PATEL, MCGURK, 2017).

Fig. 1. Estrutura química da PTX.



A incorporação de fármacos com atividade anti-inflamatória, como a PTX, à filmes poliméricos de CHI pode se tratar de um sistema promissor na aceleração da cicatrização de lesões cutâneas. Portanto, o estudo objetivou desenvolver, caracterizar e avaliar a atividade anti-inflamatória e cicatrizante de filmes poliméricos de CHI contendo PTX.

Referencial Teórico

2. REFERENCIAL TEÓRICO

Pesquisadores tem se dedicado a desenvolver novos curativos com vantajosas adaptações, através de sínteses e modificações de materiais biocompatíveis (SHIBATA et al., 1997; DRAYE et al., 1998; ULUBAYRAM et al., 2001). Otimizar o tempo cicatricial de feridas por meio de materiais projetados de forma sistemática, tem sido o foco da estratégia utilizada atualmente por pesquisadores, sobretudo, no uso de materiais biológicos como a quitosana e a quitina, que reportam uma importante capacidade no aceleração de processos de cicatrização a níveis moleculares, celulares e sistêmicos (JAYAKUMAR, et al., 2011).

Atualmente as pesquisas nesta área de tecnológica ainda demonstram esse interesse, mantendo o foco em avançados curativos terapêuticos para participarem ativamente da cicatrização de feridas crônicas e agudas, objetivando uma cicatrização rápida e com custos mais acessíveis, devido os altos custos destes curativos em todo o mundo (BOATENG, 2015).

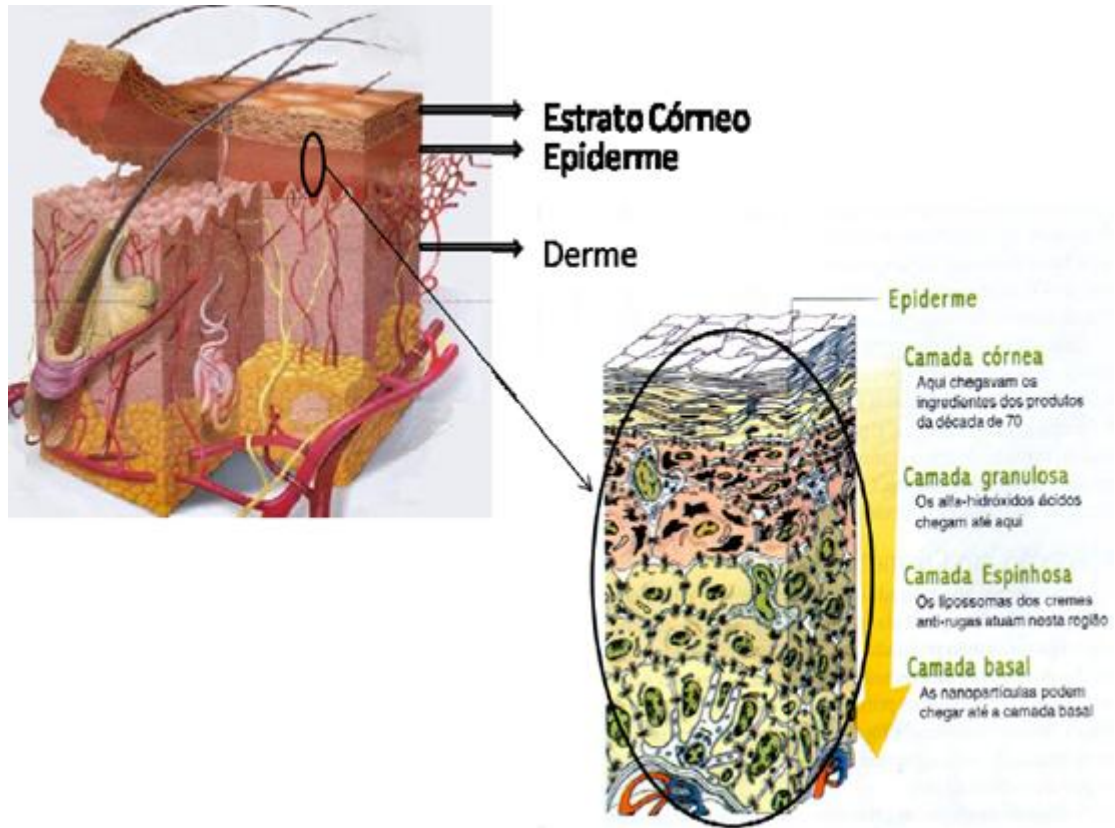
2.1 *Pele*

A pele é o principal sistema de defesa exterior que protege os sistemas do corpo interno do ataque, contaminação, infecção e efeito ambiental do microorganismo.

Sendo caracterizada como o principal sistema de defesa exterior, devido seu peso ser superior a 10% do peso total de um corpo adulto, e seu tamanho, que mede aproximadamente 2m², a pele ainda acolhe aproximadamente um terço do sangue total do corpo; É ainda responsável pela inibição do adentramento de microorganismos externos no organismo, evitando possíveis desordens, além de reportar outras funções como regulação da temperatura corpórea e transmissão de informações do ambiente externo como calor, frio, e dores (SHARMA; AGARWAL; RANA, 2011).

Este órgão é constituído de três camadas, sendo estas denominadas: hipoderme, derme e epiderme (Figura 1). A hipoderme é a camada mais interna e caracteriza-se como um tecido adiposo subcutâneo, sendo responsável por proporcionar isolamento térmico e proteção mecânica ao corpo. A epiderme e a derme são consideradas as mais importantes. Na derme, é onde se encontra os vasos sanguíneos que são responsáveis por transportar oxigênio e nutrientes. Esta camada é constituída de tecido conjuntivo, e é a responsável por proporcionar elasticidade e resistência a deformação da pele (SCHAEFER; REDELMEIER, 1997).

Figura 1: Estrutura e camadas da pele.



Fonte: Livro Piel Eudemica: Morfologia y Fisiologia (LORENZO PONS GIMIER).

Apresentando-se como a camada superficial, a epiderme, possui a capacidade de proteger a pele contra o ambiente externo e todos os derivados deste (microrganismos) que possam ser prejudicial a mesma. É também onde está contido o estrato córneo, que além de proteger a pele contra a invasão de microrganismos, ainda dificulta a permeação de fármacos, agindo como uma barreira (CHORILLI et al., 2007; GILL et al., 2009).

Para que haja absorção por via tópica, é imprescindível que o fármaco seja absorvido pelo estrato córneo e permeie a pele, processo denominado como absorção percutânea. O estrato córneo mede 10 μm de espessura, sendo constituído por células epidérmicas mortas e queratinizadas (CHORILLI et al., 2007; GILL et al., 2009).

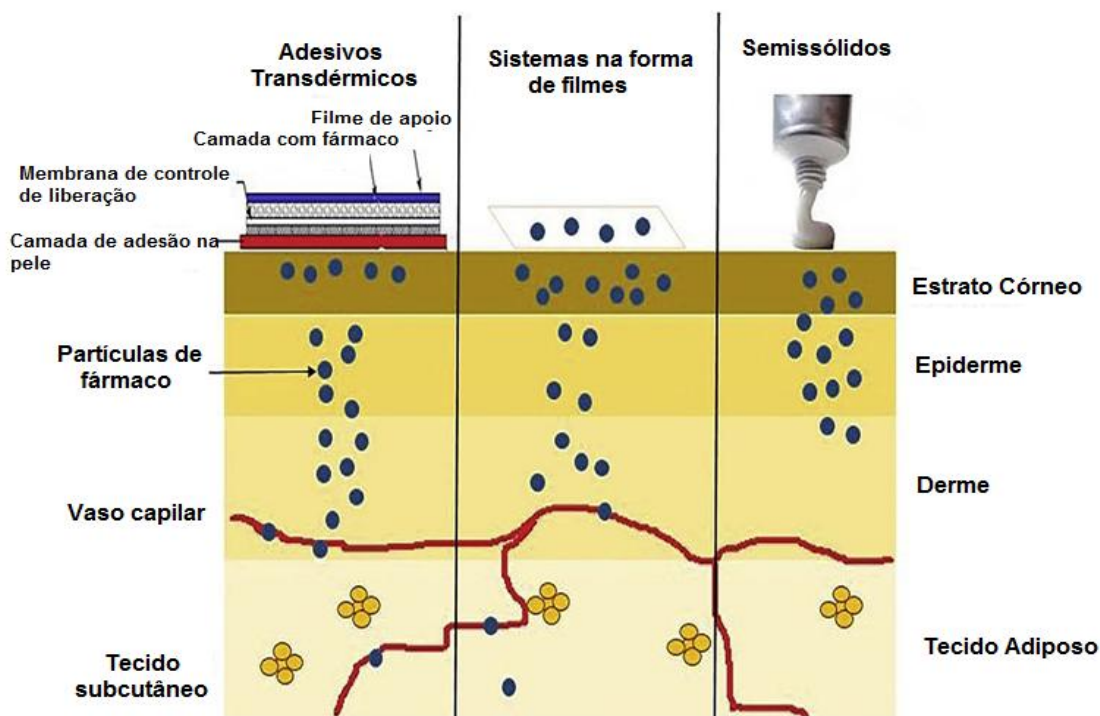
2.2 A administração de fármacos através da pele

A administração de fármacos através da pele, visa a absorção tópica local ou transdérmica, onde o fármaco incide na corrente sanguínea, e são indicados para tratar dermatoses, inflamações, e infecções de pele.

Alguns aspectos importantes e que devem ser considerados na escolha da forma farmacêutica e via de administração, são os inerentes a formulação, visto que a natureza do fármaco e o tipo de forma farmacêutica são fatores preponderantes na absorção percutânea, pois interferem bastante neste processo. Fatores como o coeficiente de partição e solubilidade aquosa possuem alta influência no fluxo transdérmico, pois moléculas grandes, bem como as de alta polaridade apresentam dificuldade no processo de permeação (SWART, et al., 2005). Desta forma, torna-se evidente que para uma satisfatória absorção percutânea, o fármaco deve apresentar algumas características consideráveis como baixo peso molecular, além de uma adequada solubilidade em meios hidrofílicos e lipofílicos, visto que apresentando boa solubilidade em apenas um destes não apresentará a ação farmacológica esperada (BRAIN, et al., 2007).

Desta forma, torna-se mais claro, a importância que a forma farmacêutica exerce sobre o processo de permeação, pois a quantidade de fármaco que permeia a pele depende na maioria das vezes da forma farmacêutica utilizada (BRAIN, et al., 2007). Na Figura 2 é apresentado um comparativo entre três formas farmacêuticas administradas através da pele, com o intuito de reconhecer a forma farmacêutica que apresenta maior vantagem para administração através da pele.

Figura 2: Comparativo entre tipos de formas farmacêuticas com base na absorção.



Fonte: KATHE; KATHPALIA., 2017.

Diversas estratégias tem sido utilizadas atualmente para auxiliarem a liberação e permeação de fármacos através da pele, com o objetivo de desenvolver formulações mais eficientes, e que possam permitir a absorção do fármaco no estrato córneo de forma mais rápida e eficaz; entre essas estratégia encontra-se o uso de promotores químicos e físicos de permeação (DAMASCENO, 2010a).

Para que a taxa de absorção de fármaco por meio da pele supra o efeito esperado, esta depende de vários fatores como a fisiologia da pele, das características físico-químicas do fármaco e do sistema de distribuição, onde estes são de suma importância para a obtenção do resultado esperado (KATHE; KATHPALIA, 2017).

A escolha da forma farmacêutica a ser usada é bastante importante, pois está diretamente relacionada com a absorção do fármaco em seu sítio alvo, sendo indispensável o desenvolvimento de formulações que garantam uma absorção efetiva através do estrato córneo (DAMASCENO, 2010a).

As formas farmacêuticas convencionais de uso tópico como pomadas e cremes usadas para o tratamento de inflamações cutâneas, reportam limitações, pois podem ser facilmente removidos, mesmo que involuntariamente, através do contato da pele com as roupas, não garantindo um contato persistente com a pele durante o tempo esperado,

comprometendo a taxa de absorção do medicamento e conseqüentemente o tratamento do paciente. Além disso apresentam uma sensação pegajosa e gordurosa quando administrados na pele, que se torna algo desagradável para alguns pacientes, conduzindo muitas vezes a descontinuação do tratamento (MANDELBAUM, S. H., SANTIS, É. P., MANDELBAUM, M. H. S., 2003).

2.3 Processo Inflamatório

A inflamação é caracterizada como uma resposta de defesa do organismo diante de uma lesão, queimadura ou um agente agressor. Quando corpos estranhos adentram na ferida, levam a respostas inflamatórias podendo acarretar na formação de abscessos e atrasando o processo de cura (BOATENG et al., 2008).

Apesar das características da inflamação ter sido descritas em 3.000 anos a.C nos papiros egípcios, foi apenas no século I d.C que os quatro sinais cardinais da inflamação foram listados pela primeira vez, por um famoso escritor romano conhecido como Cornelius Celsus, que definiu os sinais: Rubor (vermelhidão), tumor (inchaço), calor e dor como indícios de qualquer processo inflamatório (EDWARDS, 1981). Porém, apenas no século XIX, mais precisamente no ano de 1858 foi quando surgiu o quinto sinal da inflamação, sendo este descrito por Virchow e sendo cognominado como “Perda da função” da região lesada (VIRCHOW, 2008), formando assim o que vinha a ser os cinco sinais clássicos do processo inflamatório, para subsequente ativação da resposta inflamatória.

Independente do local onde foi desencadeado o processo inflamatório, estes sinais clássicos da inflamação são os primeiros a manifestar-se hemodinamicamente, visto que características como a vasodilatação, o fluxo sanguíneo e permeabilidade aumentada são alguns fatores que levam a geração destes sinais. Dentro destas características clínicas, o aumento no fluxo sanguíneo, também conhecido como hiperemia arterial, desencadeia os sinais denominados de calor e rubor; a infiltração de células nos tecidos descreve o tumor; a dor decorre do tumor e da compressão das fibras nervosas locais, já a perda da função é decorrente da dor e do tumor (NATHAN, 2005; SERHAN, 2004).

O processo inflamatório é uma cascata bastante complexa, pois ocorre no tecido conjuntivo vascularizado onde envolve diversos constituintes como os leitos capilares, o plasma, os neurônios sensoriais e os constituintes celulares e extracelulares desse

tecido. Essa cascata visa destruir o agente causador e desencadear diversos eventos que contribuem para a cicatrização e reconstituição do tecido lesado (TRACEY, 2002; COLLINS, 1999).

A inflamação pode se apresentar como um processo agudo ou crônico. A inflamação aguda caracteriza-se de forma rápida, podendo durar dias, horas ou até minutos. Neste tipo de inflamação ocorre aumento do fluxo sanguíneo, seguido pelo extravasamento do plasma. Na fase inicial ocorre um aumento significativo no número de neutrófilos. Já a inflamação crônica, apresenta um período de duração maior, e se associa a presença de macrófagos, linfócitos, proliferação de vasos e necrose tecidual (ROTE, 1998; SHERWOOD; TOLIVER-KINSKY, 2004).

Mesmo a nível sistêmico o processo cicatricial de lesões é o mesmo independente do agente que o acarrete, sendo composto por três fases: a fase inflamatória, proliferativa e de remodelagem. A fase inflamatória é onde o plasma e outros elementos celulares são extravasados, ocupando o local da injúria. A fase proliferativa é onde ocorre a produção do tecido granuloso, que leva ao fechamento da lesão, sendo esta fase a responsável pelos eventos de reepitelização, fibroplasia e angiogênese. Na fase de remodelagem, o tecido normal tentase modelar para ficar semelhante como era antes da lesão (MENDONÇA et al., 2009; LADEIRA et al., 2011; MARTIN et al., 2005).

Ainda que a resposta inflamatória tenha o objetivo de proteger e reparar o tecido lesado, a inflamação detém a capacidade de ferir o tecido (LARSEN; HOLT, 2000). Histologicamente falando, são ações de diversos mediadores que atuam sobre vasos sanguíneos ou células para gerar uma resposta inflamatória. Entre estes mensageiros químicos, destaca-se a histamina e os eicosanóides (derivados do ácido araquidônico) como os mais importantes no início da inflamação, devido sua participação na regulação do fluxo sanguíneo local, e capacidade de alterar a permeabilidade do vaso.

Existem mediadores pró-inflamatórios que se subdividem de acordo com sua origem. De origem tissular encontram-se os derivados do ácido araquidônico (tromboxanos, prostaglandinas, prostaciclina), fator de ativação plaquetária, bradicinina, histamina, serotonina, interleucina 1 e 8 (IL-1, IL-8), fator de necrose tumoral (TNF) e fator de necrose tumoral α (TNF- α). Já nos de origem plasmática temos os componentes do sistema complemento, sistema de coagulação, entre outros (CARVALHO, 2004; FEGHALI; WRIGHT, 1997). Na cascata da inflamação existem duas vias enzimáticas, a cicloxigenase (COX) que é bastante conhecida pela produção de prostaglandinas, prostaciclina e tromboxanos e a via lipoxigenase (LOX), que é responsável pela

produção dos leucotrienos e lipoxinas (SERHAN; CHIANG, 2004; SANJITA; DINAKAR; SAUMYA, 2008).

A COX, se apresenta em três isoformas, sendo estas denominadas como COX-1, COX-2 e COX-3 que são inibidas pelos anti-inflamatórios não esteroidais (AINES) (ZHANG; CAO; ZHONG, 2009). A COX-1 é constitutiva, sendo responsável pela produção de prostaglandinas, que visa proteger as células do estômago e regular o fluxo sanguíneo renal, de forma a preservar esse papel fisiológico, esta encontra-se expressa na maioria dos tecidos (VANE; BAKHLE; BOTTING, 1998). A COX-2 é induzida, e possui essa denominação devido sua indução quando ocorre uma lesão ou infecção, pois esta é induzida nas células imunológicas como macrófagos. Já a COX-3, é variável da COX-1, sendo pouco abordada pela literatura (ZHANG; CAO; ZHANG, 2009).

Os fármacos anti-inflamatórios não esteroidais (AINES), representam uma das classes mais utilizadas a nível mundial, o que requer uma maior atenção para estes, devido as suas limitações relacionadas a seus efeitos adversos (PARENTE, 2000; FIORUCCI et al., 2001). Esta classe farmacológica quando administrada por via oral, ainda sofre um extenso metabolismo de primeira passagem, acarretando em perdas do medicamento, além de apresentar significativos efeitos adversos, onde destacam-se à hemorragia no trato gastrointestinal, alterações renais, perfuração no trato gastrointestinal e alterações no mecanismo de hemostase (SCHOLICH; GEISLINGER, 2006).

Afim de contornar esses inconvenientes e devido a diversidade de tipos de lesões existentes, resultou no desenvolvimento de diversos tipos de curativos existentes atualmente no mercado farmacêutico, onde estes geralmente são inseridos com o objetivo de atingir os diversos campos do processo de cicatrização de feridas (BOATENG, et al., 2008).

Para que um curativo seja considerado ideal, este deve satisfazer algumas propriedades como manter um ambiente úmido ao redor da lesão; permitir a permeação de gases; remover os exudatos em excesso; proteger a injúria do ataque externo de microrganismos, afim de evitar possíveis infecções; minimizar dores nas lesões, serem atóxicos, não alérgico, biocompatível e biodegradável, estimular o fator de crescimento, entre outros (KOKABI; SIROUSAZAR; HASSAN, 2007).

Considerados materiais passivos, os curativos oriundos de polímeros, antes da década de 60 eram pouco conhecidos, onde seu papel no processo cicatricial era

considerado mínimo. Foi quando surgiu os primeiros curativos derivados de polímeros, que fornecia ambientes ideais para a cicatrização de feridas. Com isto, os curativos poliméricos passaram a ser mais bem vistos, onde na década de 70 investigaram a relação destas membranas derivadas de polímeros no desenvolvimento de materiais curativos sintéticos. No fim da década de 70, mais precisamente em 1978 e devido as suas excelentes atividades biológicas, foram usados diversos materiais oriundos de quitina para recobrir feridas antigas, onde estes polímeros se mostraram candidatos promissores para o desenvolvimento de curativos (BALASSA; PRUDEN, 1978).

Dentre os curativos atuais, o âmbito da tecnologia farmacêutica tem focado sua atenção para o desenvolvimento de filmes poliméricos, que permitem a incorporação de fármacos para diversas ações farmacológicas, sobretudo, os anti-inflamatórios para o tratamento de inflamações cutâneas, através do desenvolvimento de novos sistemas de liberação.

2.4 Novos Sistemas de liberação de fármacos

A cada dia tem aumentado o interesse e as pesquisas voltadas para o desenvolvimento de novas tecnologias com a finalidade de otimizar a liberação de fármacos em uma determinada taxa e sítio específico. Nesta perspectiva, as pesquisas tem sido intensa na busca de novos métodos para a distribuição de fármacos. Além de envolver o sistema de liberação na produção destas formulações, uma forma correta de administração também está envolvida na mesma, afim de evitar erros de administração que ainda hoje é bastante comum (DAMASCENO, et al., 2010a).

Não é apenas o sistema de liberação de fármacos que está envolvido na produção destas formulações, como também envolve uma forma de administração adequada, que permita uma liberação esperada do fármaco a partir do sistema em que este se encontra incorporado (SILVA, K. E. R., 2009).

Estes sistemas carreadores de fármacos apresentam algumas vantagens, onde permitem um controle na velocidade de liberação do princípio ativo sem alterar a estrutura química da molécula deste fármaco, além de sua habilidade em comportar o princípio ativo e direcioná-lo para ser liberado exatamente no sítio alvo para que este exerça sua respectiva atividade farmacológica (DAMASCENO, et al., 2010b).

Desta forma, temos o sistema reservatório onde o fármaco se encontra separado do meio de dissolução através da membrana, sendo necessário transpor essa

membrana para ser liberado da forma farmacêutica, e assim, permear a pele. Filme, é uma forma farmacêutica que pode representar este processo (DAMASCENO, et al., 2010b).

O controle de liberação do fármaco, bem como seu direcionamento são fatores indispensáveis para um sistema de liberação de fármaco, a fim de evitar efeitos colaterais e garantir seu efeito durante o tempo determinado. O desenvolvimento de novas tecnologias como filmes, microemulsões, sistemas transdérmicos e lipossomas, deu-se a partir desses avanços (ANSEL, et al., 2007; THASSU, et al., 2007).

2.4.1 Filmes para uso tópico

A entrega de fármacos através da forma farmacêutica de filmes são ideais para administração por via tópica, e apresentam diversas e consideráveis vantagens em relação aos cremes e géis, onde podemos citar a importância da matriz conter incorporada uma dose fixa do fármaco em uma área definida, além do longo tempo de permanência. Por ser um sistema fino e flexível promove a possibilidade de ser cortado, permitindo à viabilidade de adaptação ao tamanho desejável, com base na mensuração do local a ser administrado (SHIOW-FERN, N., TAN, S., 2015).

Muitas são as vantagens desta forma farmacêutica em relação as demais formas farmacêuticas de uso tópico como géis, pomadas e cremes, onde destaca-se a atenção para sua capacidade de estabilidade em ambientes biológicos relacionados a diversos fatores, como fatores mecânicos (dureza, estresse), químicos (resistência a corrosão), além de resistência ao desgaste, adesão, fricção, entre outros (CLOUTIER; MANTOVANI; ROSEI, 2015).

Filmes ainda apresentam diversas vantagens quando utilizados como curativos na cicatrização de feridas, entre essas vantagens podemos citar a boa permeabilidade aos gases, sua impermeabilidade a fluidos e à bactérias, o que impede o adentramento destas, evitando infecções que naturalmente acarretaria em maior tempo para a cicatrização do processo inflamatório. Também apresenta fácil monitorização da ferida decorrente da transparência do filme, menos maceração, além de ser um curativo com característica indolor, proporcionando maior conforto ao usuário e fácil adesão deste (KAMOUN; KENAWY; CHEN, 2017).

Segundo Redeschi,(2006) “O recobrimento de formas farmacêuticas com filmes poliméricos constitui tipos especiais de sistemas de liberação controlada, os chamados

sistemas reservatórios.” Filmes de quitosana tem sido avaliados há algum tempo, onde características como suas dimensões e a presença ou não de poros se tornam fatores indispensáveis na determinação de sua aplicação. Os micro e macroporos exercem uma relação “tamanho-exclusão”, onde esta é fundamental para a determinação de seu uso (ASSIS, et al., 2002; SPENCER; WANG, 1998). Estes filmes apresentam nanoporos em sua estrutura, que permite sua aplicação em diversos processos, dentre eles o de liberação de fármacos por meio do controle de troca gasosa (ALVES, 2002).

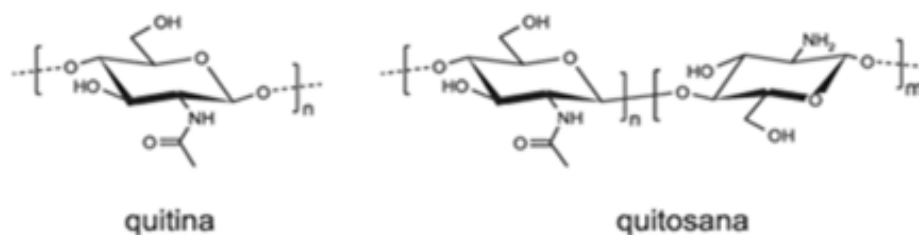
Filmes empregam um sistema promissor para entrega de fármacos que apresentam propriedades que inviabilizam sua administração por outras vias, como a pentoxifilina que devido seu caráter hidrofílico porta dificuldade para permeação cutânea, dificultando seu uso para via tópica. Afim de contornar este problema, estes fármacos são incorporados em sistemas carreadores como filmes para possibilitar seu uso por outras vias, sintetizando seus efeitos adversos, aumentando sua biodisponibilidade e possibilitando melhor adesão ao tratamento (YEWALE, et al., 2013).

Entre os polímeros naturais mais estudados para a regeneração da pele está a quitosana, em decorrência de suas inúmeras e vantajosas propriedades, onde a mesma tem se revelado como um excelente material no tratamento de feridas, podendo ser usada na formação de filmes ou membranas, géis, entre outros (SILVA, et al., 2008).

2.5 Quitosana

A quitina (Figura 3), o segundo polímero mais abundante na natureza é encontrada em exoesqueletos de crustáceos, cutículas de insetos, na parede celular de fungos e leveduras. Esta é hidrolisada em meio alcalino através de reação de desacetilação quando submetida a altas temperaturas. Na natureza esta desacetilação se dá através de enzimas como a quitinase ou pela ação de microrganismos. Essa desacetilação forma a quitosana, um copolímero constituído de repetições de unidades de 2-acetamida-2-deoxi-D-glucopiranoose e 2-amino-2-deoxi-D-glucopiranoose associadas a ligações glicosídicas β -(1→4). Quimicamente elas diferem entre si por uma amina primária (NH₂) presente no carbono 2 da quitosana. A estrutura da quitina e da quitosana é mostrada na Figura3 (CANELLA, K.M.N.C; GARCIA, R.B., 2001).

Figura 3. Estrutura da quitina e da quitosana.



Fonte:SILVA, H. S. R. C., SANTOS, K. S. C. R., FERREIRA, E. I., 2006.

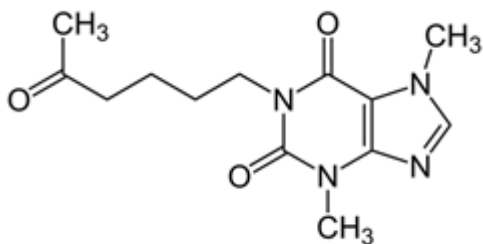
A quitosana, tem sido bastante estudada e vem sendo explorada como um veículo para a entrega de fármacos devido as suas vantajosas propriedades como: muco-adesão, alta capacidade de biodegradabilidade, propriedades antibacteriana, antifúngica, cicatrizante, além de sua atoxicidade e sua biocompatibilidade com células humana que a torna um veículo promissor para o desenvolvimento de novos sistemas de liberação de fármacos. Também vem sendo usada como pele artificial no tratamento de lesões, através de regeneração tecidual, onde ocorre uma reparação da lesão (DUTTA et al., 2009; IKINCI et al., 2002). Apresenta-se de diversas formas como filmes, membranas, géis, nanopartículas, microesferas e fibras, e quando princípios ativos de fármacos são incorporados a estas, podem exercer diversas atividades farmacológicas (PAVINATTO, F. J. 2010).

Quando usada para o desenvolvimento de filmes poliméricos, a quitosana possibilita o carregamento de fármacos para entrega tópica ou transdérmica, que por sua vez possibilita otimizar os fatores relacionados a entrega destes fármacos quando usados pela via convencional destes, ou possibilitar a administração do fármaco por uma nova via de administração. Dentre estes fármacos que podem ser incorporados em filmes de quitosana, está a pentoxifilina, para o tratamento de feridas cutâneas.

2.6 Pentoxifilina

A pentoxifilina ou oxipentifilina possui peso molecular de 278,312 daltons e fórmula molecular $C_{13}H_{18}N_4O_3$ (Figura 4), esta é intitulada na química como 3,7-diidro-3,7-dimetil-1-(5-oxoexil)-1H-purina-2,6-diona (FARMACOPÉIA BRITÂNICA, 2009).

Figura 4. Estrutura da Pentoxifilina em 2D.



Fonte: NCBI., 2018.

É um derivado da metilxantina, caracterizado como um importante vasodilatador e apresenta propriedades reológicas, reduzindo o número de plaquetas e agregamento dos glóbulos vermelho, promovendo redução na viscosidade do sangue e conseqüentemente atenua a formação de possíveis trombos (WARD, A., CLISSOLD, S. P. 1987).

Apesar da baixa biodisponibilidade, é utilizado por via oral e intravenosa, promovendo muitos efeitos adversos referentes ao trato gastrointestinal como dispepsia, náuseas, vômitos, entre outras, além de efeitos acarretados no sistema nervoso central como dor de cabeça, tontura, ansiedade e tremores (SAMLASKA, WINFIELD, 1994; ÇAKMAK, et al., 2012). Sua biodisponibilidade considerada baixa reflete no metabolismo de primeira passagem que este fármaco sofre quando administrado oralmente (TEKSIN, et al., 2009), e quando administrado intravenosamente, incide em baixa adesão do paciente ao tratamento, visto que é um método invasivo e doloroso.

Além do baixo tempo de meia vida que este fármaco apresenta, equivalente a 0,4 a 0,8 horas, este possui estrutura relacionada a da teofilina e da cafeína, e é usado para tratar doenças vasculares periféricas e na administração de insuficiência cerebrovascular, doença falciforme e neuropatia diabética (NCBI., 2018).

Alguns estudos mostraram que a pentoxifilina é eficaz na cicatrização de feridas através de redução do colágeno, além de melhorar o fluxo sanguíneo e reduzir a agregação de plaquetas (ARIAS-DIAZ, J. et al., 1997).

Estudos também apontam que este fármaco é eficaz para tratar diversas doenças dermatológicas inflamatórias, entre elas podemos destacar a reação de lepra tipo II (WELSH, et al., 1999), psoríase (GILHAR, et al., 1996), reações alérgicas de hipersensibilidade (SCHWARZ, et al., 1993), além de ser um adjuvante para o

tratamento de leishmaniose cutânea e mucocutânea (LESSA et al ., 2007; BÁFICA et al., 2003; SADEGHIAN, 2006).

Possui propriedades hemorreológicas e imunomoduladoras. Em seu mecanismo de ação atua inibindo a fosfodiesterase, acarretando em aumento dos níveis de adenosina monofosfato cíclico (AMP'c) em eritrócitos, endotélio e nos tecidos circundantes. Originando a vasodilatação, melhorando a flexibilidade dos eritrócitos e melhora o fluxo sanguíneo. Durante a produção de citocinas T-helper 2 (Th2), inibe a produção do fator de necrose tumoral alfa (TNF- α) e intérferon-gama, suscitando a inibiçãodas respostas inflamatórias e autoimunes mediadas por T-helper 1 (Th1) (NCBI., 2018).

Caracteriza-se como um composto sólido, altamente hidrofílico, possuindo solubilidade em água equivalente a 77mg/mL (a 25°C), e ponto de fusão correspondente a 105°C. Apresenta logP igual a 0,29, que demonstra uma grande atividade (Drug Bank; Human Metabolome Database).Além de ser solúvel em meio aquoso, este também é muito solúvel em ácido acético, apresentando solubilidade moderada em cloreto de metileno, clorofórmio, metanol e acetona, pouco solúvel em etanol e levemente solúvel em éter e praticamente insolúvel em hexano (HONDA; MAGALHÃES, 2001).

Em análise de infravermelho por transformada de *Fourrier*, a pentoxifilina apresenta em seu espectro picos intensos e característicos em 1660 cm^{-1} , em 1700 cm^{-1} , e em 1720 cm^{-1} , além de um pico menos intenso em 1600 cm^{-1} . Quando analisada em ultravioleta, à pentoxifilina apresenta comprimento de onda em água correspondente a 273nm, e em metanol 272nm, o que mostra que o solvente usado não afeta muito na absorção deste fármaco, visto que estes valores são considerados praticamente idênticos (FARMACOPÉIA BRITÂNICA, 2009).

É umfármaco que se liga a proteínas, correspondente a aproximadamente 70%. Sua dose letal média para via oral em camundongos é de $DL_{50} = 1385 \text{ mg / kg}^{-1}$ (NCBI., 2018). Este, ainda se caracteriza como um pó branco, cristalino, de sabor amargo e possui odor característico (GUNAWAN et al., 1998). Seu pH em solução aquosa de pentoxifilina a 1%,se apresenta na faixa de 5,0- 5,7, e sua constante de ionização (pka) correspondente a 0,28 (BRITAIN, 1998).

A pentoxifilina, carrega consigo a possibilidade de melhoramento quanto à oxigenação do tumor, em decorrência de efeitos reológicos, como também pode

melhorar a morbidade do tecido quando associada aos tratamentos por modulação de modificações inflamatórias (NIEDER, et al., 2005).

Em estudo realizado por GRUBER e colaboradores(2017), foram avaliadas mudanças inflamatórias precoces na mucosite oral induzida por radiação, onde administrou pentoxifilina, para avaliar a capacidade de sua influência neste tratamento quanto aos aspectos de modulação e alterações inflamatórias. Foi um estudo *in vivo* realizado em ratos, onde a irradiação foi administrada nos focinhos, e tratados com pentoxifilina. Analisou as expressões das proteínas inflamatórias TNF- α e IL-1 β . Enquanto a irradiação fracionada elevou a expressão de todos os marcadores inflamatórios, a pentoxifilina minimizou de forma significativa esses fatores, elucidando sua suposta atividade anti-inflamatória.

2.7 Ensaio de Liberação de Fármacos

O processo de liberação do fármaco caracteriza-se como o procedimento que vai desde o momento no qual o fármaco é liberado de sua forma farmacêutica e se torna disponível para ser absorvido pelo organismo e exercer sua atividade farmacológica (CHOWDARY, et al., 1987).

Embora o teste de liberação *in vitro* de fármacos tenha sido desenvolvido objetivando a avaliação de fármacos de formas farmacêutica sólidas, atualmente esta técnica vem sendo usada para avaliar o perfil cinético de liberação de outras formas como filmes, adesivos transdérmicos, suspensões, pomadas, supositórios, entre outros (MARCOLONGO; STORPIRTIS, 2003).

Este ensaio é de suma importância na indústria farmacêutica, visto que é fator imprescindível para o desenvolvimento de medicamentos, bem como no controle de qualidade de rotina (MARCOLONGO; STORPIRTIS, 2003).

Os testes de liberação de fármacos ficaram popular, devido ao avanço da tecnologia e das pesquisas envolvendo liberação de fármacos, e maior previsibilidade dos efeitos terapêuticos através destes testes (NOYES, et al., 1987).

Para melhor compreensão do ensaio de liberação *in vitro*, é importante conhecer algumas características relacionados ao ensaio, como: permite avaliar a liberação de diversas formas farmacêuticas como filmes, pomadas, géis, cremes, supositórios, microemulsões, entre outras; ocorre a dissolução do fármaco no veículo; difusão de fármaco através da membrana (GORDON, 1997).

A lei de Fick foi usada por NERST e BRUNNER em 1904 para estabelecer outra relação entre a constante de proporcionalidade e o coeficiente de difusão do soluto, onde este estudo permitiu a determinação da espessura da camada de difusão (WAGNER, 1971; ABDU, et al., 1989; BANAKAR, 1992). A lei de Fick que permite a determinação do fluxo de permeação do fármaco através do estrato córneo, encontra-se demonstrada na Equação 1 (HIGUCHI, 1960).

$$J = \frac{DM \times C_{sm}}{L} \times \frac{C_v}{C_{sm}} \quad \text{(Equação 1)}$$

Onde:

J = fluxo

D_M = coeficiente de difusão do fármaco na membrana

$C_{S,m}$ = solubilidade do fármaco na membrana

L = extensão de difusão do fármaco na membrana

C_V = concentração do fármaco dissolvido no veículo

$C_{S,v}$ = solubilidade do fármaco no veículo

O sistema de liberação de fármacos a partir de matrizes poliméricas é bastante complexo, desta forma, existem alguns modelos usados para avaliar o perfil de liberação de fármacos a partir destas formas farmacêuticas oriundas de polímeros (COSTA; LOBO, 2001).

O modelo de ordem zero é usado na maioria das vezes para demonstrar a liberação de diversas formas farmacêuticas que apresentam um perfil de liberação controlada. Este modelo cinético se embasa em uma liberação lenta, em formas farmacêuticas que não se desagreguem (VARELAS, et al., 1995). A equação 2 representa este modelo cinético.

$$Q_t = Q_0 + k_0 t \quad \text{(Equação 2)}$$

Onde,

Q_t = quantidade de fármaco dissolvido ao tempo t

Q_0 = quantidade inicial de fármaco dissolvido na solução ($Q_0 = 0$, geralmente)

k_0 = constante de liberação de ordem zero

t = tempo.

Este modelo é bastante difícil de se obter na prática. Formas farmacêuticas de liberação prolongada apresentam esta cinética de ordem zero como perfil de liberação, onde a velocidade de dissolução é maior que a velocidade de difusão do princípio ativo do meio interno para o meio externo à matriz, levando ao encadeamento do fármaco.

Em 1967, GIBALDI e FELDMAN apresentaram o modelo de primeira ordem ao realizarem estudos de dissolução, e dois anos depois WAGNER definiu a Equação 3 como representativa deste modelo.

$$\text{Log}Q_t = \text{Log}Q_0 + k_1 t \quad (\text{Equação 3})$$

Onde,

Q_t = quantidade de fármaco liberado no tempo t

Q_0 = quantidade inicial de fármaco na solução

k_1 = constante de liberação de primeira ordem

t = tempo

Neste modelo o gráfico representativo obtido é linear, sendo constituído com base no logaritmo decimal da quantidade liberada de princípio ativo em relação ao tempo. Desta forma a quantidade de fármaco liberado por período de coleta tende a ser menor, visto que este modelo é encontrado com perfil linear. Normalmente este modelo é seguido por formulações carreadoras de fármacos solúveis em meios aquosos em matrizes que possuem poros, onde a quantidade de fármaco liberado é proporcional a quantidade que ainda resta de fármaco em seu interior (MULYE; TURCO, 1995).

Já o modelo de HIGUCHI foi desenvolvido em 1961 com o objetivo de demonstrar a velocidade com que o fármaco é liberado (fármacos de liberação controlada) a partir de seu sistema. Permite a avaliação da liberação de diversas formas farmacêuticas como sistemas transdérmicos e tópicos, e comprimidos matriciais contendo fármacos hidrofílicos, onde é usado para avaliar a dissolução de fármaco (COSTA; LOBO, 2001). A equação deste modelo expressa a fração da massa liberada, modelo este que é representado pela Equação 4.

$$Q_t = k_H t^{1/2} \quad (\text{Equação 4})$$

Onde,

k_H = constante de dissolução de Higuchi

Esta constante descreve a liberação do fármaco como um mecanismo de difusão baseado na lei de Fick, onde depende da raiz quadrada do tempo.

O modelo de HIGUCHI apresenta algumas limitações, devido a possibilidade de alguns sistemas sofrerem erosão devido seu intumescimento, onde deve gerar um relaxamento das cadeias poliméricas, pois este fenômeno pode comprometer o processo de transporte do fármaco. Apesar de todas essas limitações, esta equação ainda é mais fiel que a equação de ordem zero nos sistemas matriciais. O uso deste modelo é mais confiável em matrizes que apresentem uma única dimensão, e não intumescam, como o acetato de celulose em fármacos altamente hidrofílicos (TAHARA, et al., 1996), como é o caso da pentoxifilina.

O modelo de KORSMEYER-PEPPAS, é indicado para aqueles fármacos que não se embasam na Lei de Fick, e desta forma apresentam um comportamento irregular. Este modelo é indicado para liberação onde existe mais de um fenômeno envolvido e apresentam uma liberação não muito consolidada (MELO et al., 2010). A equação 5 descreve este modelo.

$$Q_t/Q_0=kt^n \quad \text{(Equação 5)}$$

Onde,

Q_t = quantidade de fármaco liberado no tempo t

Q_0 = quantidade inicial de fármaco na solução

k = constante cinética e n é a exponencial de liberação.

Objetivos

3 OBJETIVOS

3.1 Objetivo geral

Desenvolver e avaliar a atividade anti-inflamatória de filmes poliméricos de quitosana contendo pentoxifilina para uso tópico.

3.2 Objetivos Específicos

- Desenvolver os filmes de quitosana contendo pentoxifilina.
- Caracterizar os filmes de quitosana contendo pentoxifilina em relação a análises Espectroscópicas por meio de IV e DRX.
- Caracterizar os filmes obtidos em relação a análise térmica TG e DSC.
- Caracterizar os filmes obtidos em relação a Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV).
- Estudar a liberação da pentoxifilina no filme de quitosana seguido de quantificação em UV-Vis.
- Avaliar a atividade anti-inflamatória *in vivo* do filme obtido em feridas cutâneas induzidas em camundongos.

Materiais e Métodos

4. MATERIAIS E MÉTODOS

4.1 *Materiais*

- Pentoxifilina
- Quitosana - Sigma Aldrich
- Ácido Acético P.A.
- Hidróxido de Sódio
- Fosfato de Potássio monobásico
- Etanol
- Tampão Fosfato em pH 7,4

4.2 *Desenvolvimento dos Filmes de quitosana e quitosana + pentoxifilina*

O desenvolvimento destas formulações foi realizado no Laboratório de Desenvolvimento e Caracterização de Produtos Farmacêuticos (LDCPF) da Universidade Estadual da Paraíba (UEPB).

Para desenvolver a formulação, foi usada a técnica de evaporação do solvente (SANTANA, C. C. et al., 2014), uma técnica que consiste, inicialmente, na dissolução da quitosana (1% m/v) em solução de ácido acético (1% v/v). Esta solução foi submetida à agitação magnética com o auxílio de uma barra magnética por um período de 24 horas, sem haver nenhuma interrupção no tempo de agitação. Após esse período, a mesma foi filtrada a vácuo para remoção de qualquer material insolúvel, obtendo desta forma, a solução polimérica de quitosana na concentração de 1% (m/v).

Fazendo uso de uma pipeta automática regulável, retirou-se uma alíquota de 5 mL desta solução e colocou-a em uma placa de Petri. A solução na placa de Petri foi submetida a homogeneização (60 rpm) por um período de 24 horas em uma incubadora *oushaker* (Tecnal, mod TE-420, Piracicaba, São Paulo, Brasil). Em seguida, as placas foram acondicionadas em estufa de circulação de ar TE-394/2 TECNAL (TECNAL, TE-394/2, Piracicaba, São Paulo, Brasil) à temperatura constante de 50 °C, por um período de 24 horas, para evaporação do ácido acético contido nesta formulação, os filmes foram retirados com o auxílio de uma pinça após submissão deste período de secagem, obtendo assim, os filmes brancos, compostos apenas por quitosana (FBr).

Para obtenção dos filmes de quitosana contendo o fármaco, preparou-se uma solução aquosa de pentoxifilina na concentração de 10mg (F1) e 20mg (F2)/ mL. A metodologia de incorporação da pentoxifilina seguiu a mesma metodologia acima para a produção do filme branco, com apenas a diferença que antes da incubação de 24 horas na incubadora *oushaker*, adicionou-se 1 mL da solução de pentoxifina nas concentrações descritas acima.

4.3 Caracterização dos filmes obtidos

4.3.1 Caracterização físico-química

4.3.1.1 Espectroscopia de Absorção ao Vibracional na Região Infravermelho por Transformada de Fourier (FTIR)

A análise de espectroscopia de infravermelho de pentoxifilina e dos filmes foi realizada utilizando um espectrômetro Spectrum 400 FT-IR/FT-NIR *Spectrometer* (*Perkin Elmer*®, Boston, Massachusetts, EUA). Bandas de absorção características foram utilizadas para analisar o fármaco e os filmes. As amostras de pó de PENT (cerca de 1 mg) foram adicionadas a 100 mg de KBr, sob uma pressão de 1×10^7 Pa. Já os filmes foram colocadas sobre a placa de aço e analisados diretamente na varredura de 2000 à 600 cm^{-1} .

Essas análises foram realizadas para os filmes F1 (filmes contendo 10mg de pentoxifilina), F2 (contendo 20mg) e FBr (filmes branco, sem o fármaco).

4.3.1.2 Difração de Raios-X (DRX)

As amostras foram submetidas à análise por DRX, através de um difratômetro de raios X modelo XRD 6000 (*Shimadzu*®, Kansai, Quioto, Japão) com varredura angular $2^\circ < 2\theta < 45^\circ$, na montagem de Bragg-Brentano, sistema θ - 2θ , utilizando-se radiação de Cu ($\text{K}\alpha_1$) com varredura no passo de $0,5^\circ/\text{min}$ (2θ).

4.3.2 Análise Térmica

4.3.2.1 *Análise Termogravimétrica (TG)*

As curvas termogravimétricas (TG) da PENT e dos filmes foram obtidas em um módulo termogravimétrico TG 4000 (*Perkin Elmer*®, Boston, Massachusetts, EUA), na razão de aquecimento de 10°C min⁻¹ até 1000°C. Utilizou-se atmosfera de nitrogênio, com fluxo de 50 mL/min. Foi utilizado massa de 5,00 ± 0,05 mg acondicionada em cadinho de alumina para cada amostra. A calibração do equipamento foi realizada com padrão de oxalato de cálcio.

4.3.2.2 *Calorimetria Diferencial Exploratória (DSC)*

As curvas DSC foram obtidas em um módulo calorimétrico exploratório diferencial (*Perkin Elmer*®, modelo Q20 (TA Instruments, New Castle, USA). As amostras (2.000 ± 0,005 mg) foram acondicionadas em cadinhos de alumínio hermeticamente fechados e pesados. A análise foi executada nas seguintes condições: de 25°C a 335°C, sob razão de aquecimento de 10 °C/min, em atmosfera de nitrogênio (N₂) com fluxo de 50 mL.min⁻¹.

4.3.3 **Estudo Morfológico**

4.3.3.1 *Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV)*

A análise de MEV será realizada para avaliar as características topográficas e morfológicas dos filmes compostos por quitosana (branco), dos filmes contendo quitosana e pentoxifilina (F1 e F2) e da pentoxifilina pura. Os filmes serão cortados e posteriormente fixados no suporte. As amostras serão observadas com MICROSCÓPIO MODELO TESCAN VEGA 3 (TESCAN), usando imagens de elétrons secundários em 2,0kV para o fármaco e 8,0 kV para os filmes, para examinar sua morfologia superficial e sua estrutura interna.

4.4 ***Ensaio de liberação da pentoxifilina a partir dos filmes***

O estudo de liberação *in vitro* da PENT à partir dos filmes foi realizado com células de difusão do tipo FRANZ com área difusional de 0,7539 cm² e volume em aproximadamente 6 mL. O compartimento receptor foi preenchido com etanol e tampão

fosfato USP 0,01M e pH 7,4 na proporção 40:60 em um sistema composto de seis células individuais conectados a um banho termostaticado à $37^{\circ}\text{C} \pm 0,5^{\circ}\text{C}$ sob agitação constante de aproximadamente 350 rpm por um período de 72 horas. Os filmes foram colocados entre o compartimento doador e receptor de forma que ficassem em contato com a solução receptora. Os filmes agiram de duas formas, a primeira como meio seletivo (membrana) e a segunda como compartimento doador de PENT, para isso foram ajustados ao tamanho da área difusional, resultando-se em uma concentração de 2741,45 μg de PENT para F2 (20 mg) e 1370,72 μg de PENT para F1(10mg). Em períodos de tempos pré-determinados (0,25; 0,5; 1; 1,5; 2; 4; 6; 8; 12; 18; 24, 30, 36, 42, 48 e 72h) todo o líquido do compartimento receptor foi coletado e imediatamente repostado. A PENT liberada foi quantificada em espectrofotometria UV e o índice de correlação de Pearson (r) foi utilizado para identificar qual modelo cinético se mostrava mais adequado para descrever a liberação da PENT a partir deste sistema.

4.5 Estudo in vivo dos filmes poliméricos contendo pentoxifilina

Foram utilizados camundongos Swiss (*Mus musculus*) machos e fêmeas pesando entre 25 e 35g provenientes do Biotério da Faculdade de Ciências Médicas de Campina Grande/PB (Acordo de Mútua Cooperação - Edital de Chamamento Público 001/2013 UEPB/PROAD- CONV). Estes animais foram mantidos com temperatura ($22 \pm 2^{\circ}\text{C}$) e umidade (60-80%) controladas, ciclo claro/escuro de 12 horas e com livre acesso a água e ração. Os animais foram trazidos à sala de experimentação pelo menos 1 h antes do início dos testes que serão realizados durante a fase clara do ciclo claro/escuro.

Os experimentos foram conduzidos de acordo com as orientações para os cuidados com animais de laboratório e normas e considerações éticas aprovadas pelo comitê de Ética no uso de animais (CEUA) da Faculdade de Ciências Médicas de Campina Grande/PB (FCM/CESED) (ANEXO 1).

4.5.1 Feridas cutâneas

Para a realização das feridas cutâneas experimentais os animais foram anestesiados por meio de injeção intraperitoneal de solução contendo ketamina 100 mg/kg e xilazina 0,05 mg/kg. Em seguida foi realizado a tricotomia de

uma área de aproximadamente 16cm² da região dorsal de cada animal, antissepsia local com clorexidina 4%, e finalmente foi feita duas excisões circulares na pele com punch dermatológico estéril para biopsia de 7mm de diâmetro(uma de cada lado da linha mediana longitudinal do dorso), retirando-se os fragmentos da pele e deixando exposto o *panniculus carnosus* (LOWE et al., 2001; FRANK; KÄMPFER, 2003; LEE; LI; HUANG, 2003; WANG et al., 2013; WEINHEIMER-HAUS; MIRZA; KOH, 2015; CIARLILLO et al.,2017).

4.5.2 Grupos e Tratamentos

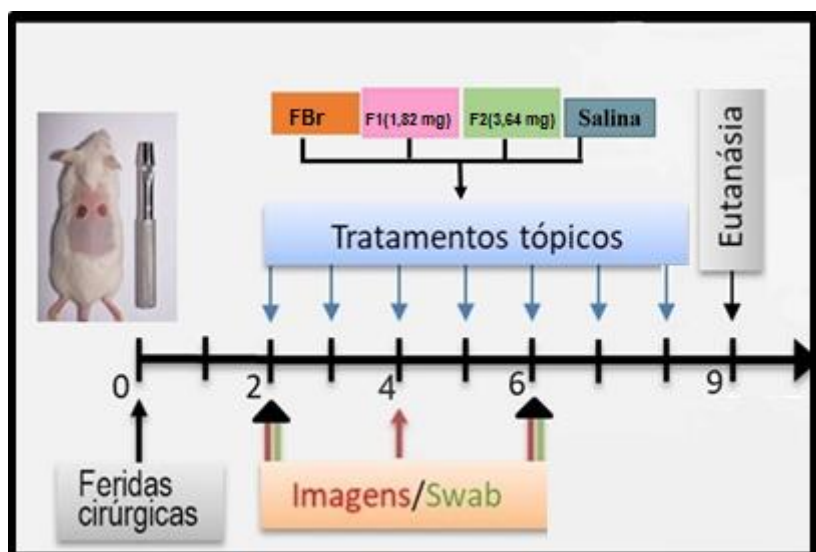
Os animais foram divididos em 5 grupos (1 grupo – controle negativo, 1 grupo – com filme branco (FBr), 1 grupo – com filme F1, 1 grupo – com filme F2, 1 grupo – controle positivo com pomada) contendo 7 animais em cada grupo. Os tratamentos tópicos foram aplicados diariamente(uma vez ao dia) a partir da realização das feridas cutâneas. O dia da realização da ferida foi considerado o dia 0. Nos dias 2,4, 6 e 9, as feridas foram fotografadas(para auxiliar a avaliação clínica, e realização da avaliação morfométrica). Era realizada limpeza prévia das feridas utilizando-se salina estéril 0,9%, e em seguida a aplicação tópica dos diferentes tratamentos de acordo com cada grupo experimental como descritos abaixo:

Tabela 1 – Tratamento utilizado nos diferentes grupos no período de 9 dias.

Grupo	Tratamento	Duração
G1	200 µl de solução salina estéril 0,9%	9 dias
G2	FBr	
G3	F1 (1,82 mg PTX)	
G4	F2 (3,64 mg PTX)	
G5	Diproprionato de betametasona com sulfato de gentamicina	

Foi feita eutanásia em todos os animais através de anestesia inalatória profunda (halotano 3%) seguida de deslocamento cervical (CFMV, 2012) para evitar sofrimento dos animais e seguindo o código de ética.

Figura 5 : Protocolo desenvolvido para o teste *in vivo*.



Fonte: Dados da pesquisa.

4.5.3 Avaliação das feridas cutâneas

4.5.3.1 Aspectos clínicos das feridas cutâneas

Para a avaliação da evolução dos aspectos clínicos da cicatrização das feridas foi feita análise macroscópica, observando-se os sinais flogísticos: edema, hiperemia, formação de crosta e exsudato, nos dias 2, 4, 6 e 9 após a realização das feridas cirúrgicas (GUPTA et al., 2015).

4.5.3.2 Análise morfométrica das feridas cutâneas

Foram obtidas imagens das feridas nos dias 2, 4, 6 e 9 após a realização da lesão, com o auxílio de uma câmera fotográfica digital (Nikon® D5300 24,2 MP + lente Tamron® 16-300mm F/3,5-6,3 Di II VC PZD MACRO) à uma distância fixa de 15 cm do objeto. Com uma escala graduada mantida ao lado da ferida, permitiu realizar a mensuração das áreas das lesões (mm^2), utilizando-se o software ImageJ® 1.51j8 (disponível em: <https://imagej.nih.gov/ij/>) (TANG et al., 2014; KOLUMAM et al., 2017). Área residual de cada ferida foi obtida através da equação abaixo (IMMONEN; ZAGON; MCLAUGHLIN, 2014; TANG et al., 2014).

$$\text{Área residual da ferida} = \frac{\text{Área atual da ferida}}{\text{área inicial da ferida}} \times 100$$

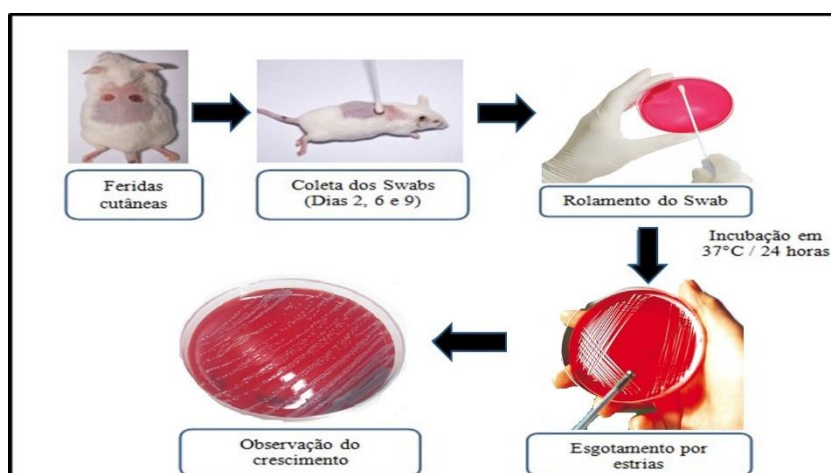
4.5.3.3 *Análise estatística*

Os dados foram expressos como a média \pm EPM. Análise de variância (ANOVA) de uma via seguida pelo *post hoc* Teste de Neuman - Keuls foram utilizados para comparação entre os grupos, foram consideradas significativas as diferenças com $p < 0,05$.

4.6 ANÁLISE MICROBIOLÓGICA DAS FERIDAS CUTÂNEAS

Para identificação dos micro-organismos presentes nas feridas cutâneas foram coletadas amostras das áreas das lesões detrés animais dos grupos G1, G2 e G4 nos dias 2, 6 e 9, sendo empregados para coleta *swabs* estéreis em meio Stuart. Após a coleta, as amostras foram levadas para o setor microbiológico do Laboratório de Análises Clínicas da Universidade Estadual da Paraíba (LAC-UEPB). Os *swabs* foram inoculados em caldo BHI por um período de 24 horas para crescimento bacteriano, para posteriormente realizar o isolamento e identificação das bactérias. Após essas 24 horas em caldo BHI, utilizou-se o swab incorporado neste caldo para semeio em placa de Petri através do método de esgotamento por estrias, seguido de repique em quatro meios de cultura (Ágar Sangue, Agar CLED, Ágar Mac-Conkey, Ágar EMB e Ágar Mueller-Hinton.), com intuito de isolar as bactérias para posteriormente identifica-las. Estas amostras foram incubadas a 37 °C por 24 horas (Figura 6).

Figura 6: Protocolo desenvolvido para análise da atividade antimicrobiana *in vivo*.



Fonte: A própria autora.

Após a incubação das placas, verificou-se as características das colônias, determinando-as como Gram-positivas ou Gram-negativas, bem como o crescimento microbiológico e as características morfológicas das colônias em cada meio de cultura, conforme mostrado na Figura 6. Em seguida, realizou-se os testes de catalase, coagulase e os teste de identificação, onde estes se encontravam em tubos de vidro, sendo: TSI (picada até o final e estria por cima), SIM (picada até 2/3), LIA (duas picadas até o final e estria por cima), citrato (traço na superfície) e ureia (estria por cima). A semeadura desses meios foi realizada, sendo, em seguida, colocada em estufa a 37 °C por 24 horas.

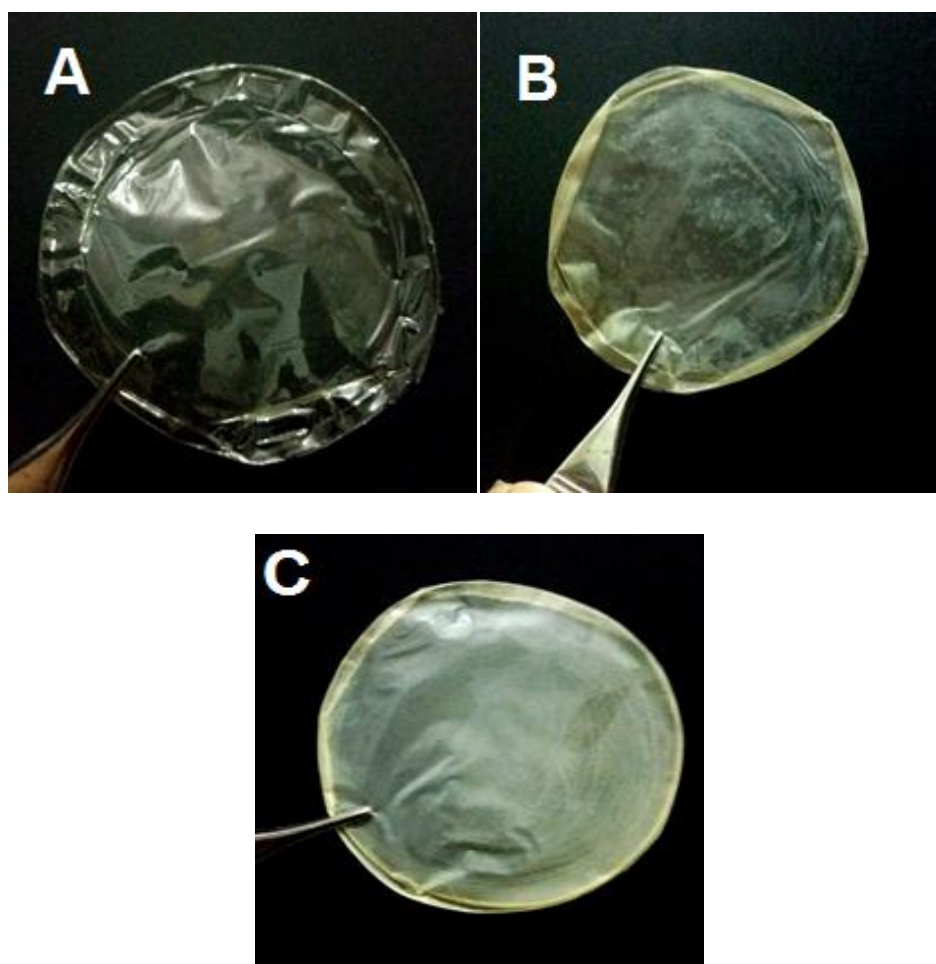
Resultados e Discussão

5 RESULTADOS E DISCUSSÃO

5.1 Desenvolvimento dos Filmes

Na Figura 7 são apresentados os três tipos de filmes desenvolvidos neste estudo.

Figura 7: Filmes desenvolvidos neste estudo (A: filme branco; B: Filme com pentoxifilina – 10mg; C: filme com pentoxifilina – 20mg).



Fonte: A própria autora.

Na imagem em A corresponde ao filme branco (FBr), composto apenas por quitosana. Este apresenta uma coloração totalmente translúcida, oriunda do polímero. Em B temos representado o filme contendo pentoxifilina na concentração de 10mg (F1), em que a pentoxifilina foi facilmente solubilizada em meio aquoso, devido seu perfil hidrofílico, para posteriormente ser

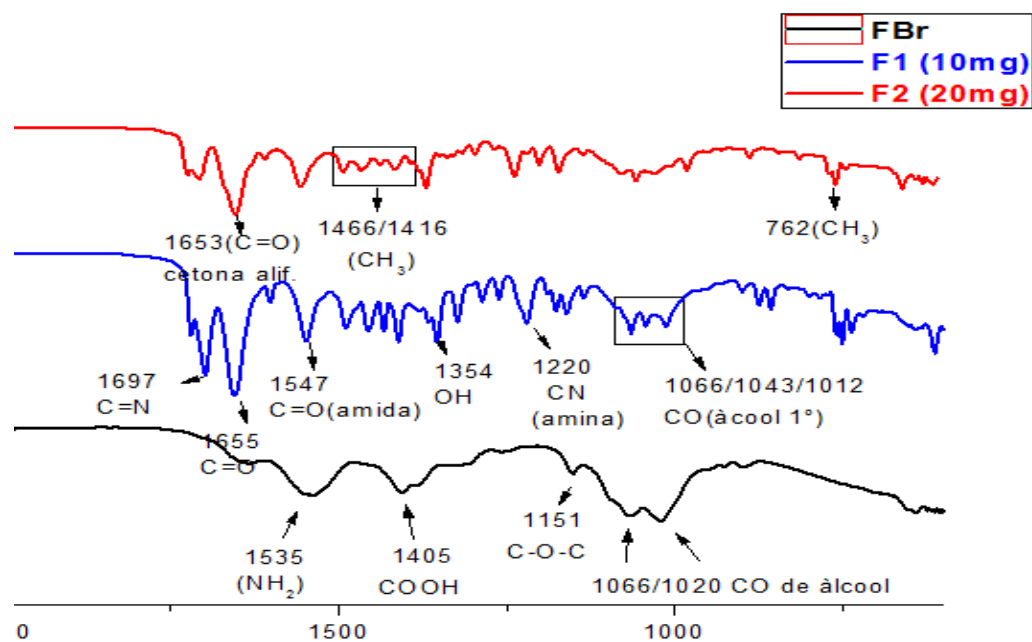
incorporada nestes filmes. Visualmente este apresentou um caráter homogêneo de coloração ligeiramente amarelado, decorrente da interação do fármaco com a quitosana neste sistema. Já em C temos o equivalente ao filme contendo pentoxifilina na concentração de 20 mg (F2). Macroscopicamente este apresentou um perfil homogêneo, e de coloração amarelo leitoso, decorrente da maior concentração do fármaco no sistema. É possível observar que o filme A que possui apenas quitosana em sua composição apresentou um perfil mais translucido e límpido, enquanto os filmes F1 e F2 apresentaram uma coloração amarelada decorrente da presença da pentoxifilina no sistema, onde, conforme aumentou a concentração do sistema, aumentou a intensidade da coloração e a opacidade do mesmo resultante da presença do fármaco.

5.2 CARACTERIZAÇÃO FÍSICO-QUÍMICA

5.2.1 ANÁLISE DE INFRAVERMELHO POR TRANSFORMADA DE FOURRIER

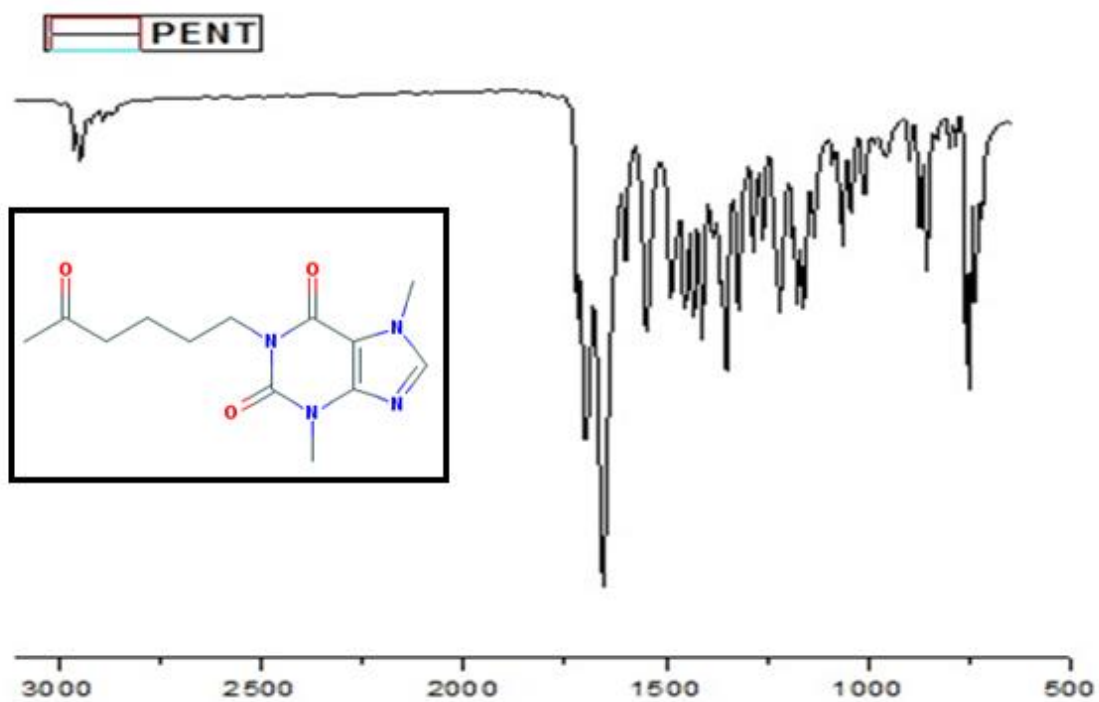
A Figura 8 mostra os espectros de infravermelho referente aos filmes de quitosana contendo pentoxifilina, enquanto que na Figura 9 é apresentado o espectro de infravermelho da pentoxifilina. Os valores de absorbância obtidos por transformada de *Fourier* que caracterizam esse sistema estão disponíveis na Tabela 2.

Figura 8: Espectro de infravermelho por transformada de *Fourier* dos filmes.



Fonte: A própria autora.

Figura 9: Espectro de infravermelho da pentoxifilina.



Fonte: A própria autora.

Tabela 2: Absorbância referente aos picos encontrados e seus respectivos grupos funcionais.

Faixa de abs. (cm^{-1})	Absorções encont. (cm^{-1})	Grupos de referência
1690-1640	1705	Estiramento de CN
1690-1640	1697	Estiramento de C=N
1650	1654	Estiramento C=O da cetona alifática
1650	1653	Estiramento C=O da cetona alifática
1560	1535	Deformação de NH ₂
1465	1466	Estiramento de CH do alcano
1375-1450	1416	Estiramento de CH do alcano
1400	1409	Estiramento de Ác. Carboxílico
1400	1406	Estiramento de Ác. Carboxílico
1420-1330	1369	Estiramento de OH do álcool
1420-1330	1354	Estiramento de OH do álcool
1250-1020	1236	Estiramento de CN da amina
1250-1020	1220	Estiramento de CN da amina
1250-1020	1201	Estiramento de CN da amina
1250-1020	1176	Estiramento de CN da amina
1250-1020	1173	Estiramento de CN da amina
1250-1020	1161	Estiramento de CN da amina
1159	1151	Vibração de C-O-C
1275-1020	1066	Estiramento de CO de álcool primário
1085-1050	1064	Estiramento de CO de álcool primário
1275-1020	1057	Estiramento de CO de álcool primário
1250-1000	1043	Estiramento de CO de álcool primário
1250-1000	1020	Estiramento de CO de álcool primário

1275-1020	1012	Estiramento de CO de álcool
730-770	762	Estiramento de CH de alcanos
730-770	752	Estiramento de CH de alcanos
Faixa de abs. (cm^{-1})	Absorções encont. (cm^{-1})	Grupos de referência
730-770	736	Estiramento de CH de alcanos
665	661	Estiramento de C=C

Fonte: PAVIA, 2016.

Caracterizando os filmes de quitosana, é possível encontrar picos importantes e bastante característicos em seu espectro. No filme branco encontra-se em 1535 cm^{-1} uma absorção característica de deformação de ligações NH_2 . Na faixa de 1406 cm^{-1} é possível detectar uma absorção sugestiva de estiramento de ligações de COOH ácido carboxílico, pois se encontra próximo a 1400 cm^{-1} . Em 1151 cm^{-1} encontra-se vibrações do tipo C-O-C, próximo a faixa de 1159 cm^{-1} . Em 1020 e 1066 cm^{-1} encontram-se picos sugestivos de estiramento C-O de álcoois primários, visto que estes se encontram na faixa de 1000 a 1250 cm^{-1} . Nos filmes contendo pentoxifilina incorporada nas concentrações de 10 e 20 mg , encontram-se picos característicos do fármaco, além dos picos referente ao sistema polimérico, onde em 1705 cm^{-1} encontra-se um pico referente ao estiramento de CN, em 1697 cm^{-1} é possível observar um pico sugestivo de ligações C=N, em 1654 e em 1653 cm^{-1} encontram-se picos sugestivos de estiramento de C=O da cetona alifática, em 1466 e 1416 cm^{-1} apresentam estiramentos de ligações do tipo CH dos alcanos, em 1409 cm^{-1} ocorre a presença de pico de estiramento de COOH , que se encontra próximo a 1400 . Em 1369 e 1354 cm^{-1} é possível observar picos referente ao estiramento de OH de álcoois. Em 1236 , 1220 , 1201 , 1176 , 1173 , 1161 cm^{-1} encontram-se picos referente a estiramentos de CN das aminas. Em 1064 , 1057 , 1043 e 1012 cm^{-1} ocorre estiramento de C-O de álcool primário, em 762 , 752 e 736 cm^{-1} encontram-se picos sugestivos de estiramento de CH de alcanos, e em 661 cm^{-1} encontra-se um pico sugestivo de estiramento de ligações do tipo C=C (PAVIA, 2016).

Na Figura 9, equivalente ao espectro de infravermelho na análise de pentoxifilina é possível caracterizar os principais picos de absorção no

infravermelho, onde em 2951 cm^{-1} está presente um pico duplo com metades equivalentes, referente a ligações N-H, característico de amidas. Em 1693 cm^{-1} está presente um pico forte característico de ligações C=N, equivalente a grupos de iminas ou oximas, visto que este se encontra na faixa destes grupamento, $1690\text{-}1640\text{ cm}^{-1}$. Já em 1653 cm^{-1} é notório uma absorção representada por um pico estreito e de forte intensidade de estiramento de ligações C=C de aromático, e sugestivo de isomeria *cis*, onde este se encontra próximo a faixa de 1650 cm^{-1} característica deste tipo de ligação. Na faixa do espectro de 1354 cm^{-1} é a absorção representada pelo pico sugestivo de ligação C-N, referente ao grupamento de Amina de estiramento simétrico que pode abranger a faixa de $1350\text{-}1000\text{ cm}^{-1}$. Nesta análise também se encontra um notório e intenso pico de absorção na faixa de 750 cm^{-1} , característico de ligações C-H de estiramento aromático na forma de dobramento fora do plano, visto que este se encontra dentro da faixa de $900\text{-}690\text{ cm}^{-1}$ (PAVIA, 2016).

O filme branco apresentou um perfil diferente dos demais filmes, como já era esperado, devido este ser composto apenas por quitosana, não possuindo a incorporação do fármaco, desta forma seus poucos picos apresentaram-se largos, sendo referentes apenas ao do polímero.

Os espectros referente aos filmes F1 e F2 representam as interações ocorridas entre as moléculas do fármaco e o polímero, onde estes apresentaram bandas equivalentes, tanto as bandas oriundas da pentoxifilina quanto as bandas referentes a quitosana, demonstrando que o fármaco encontra-se disperso no sistema.

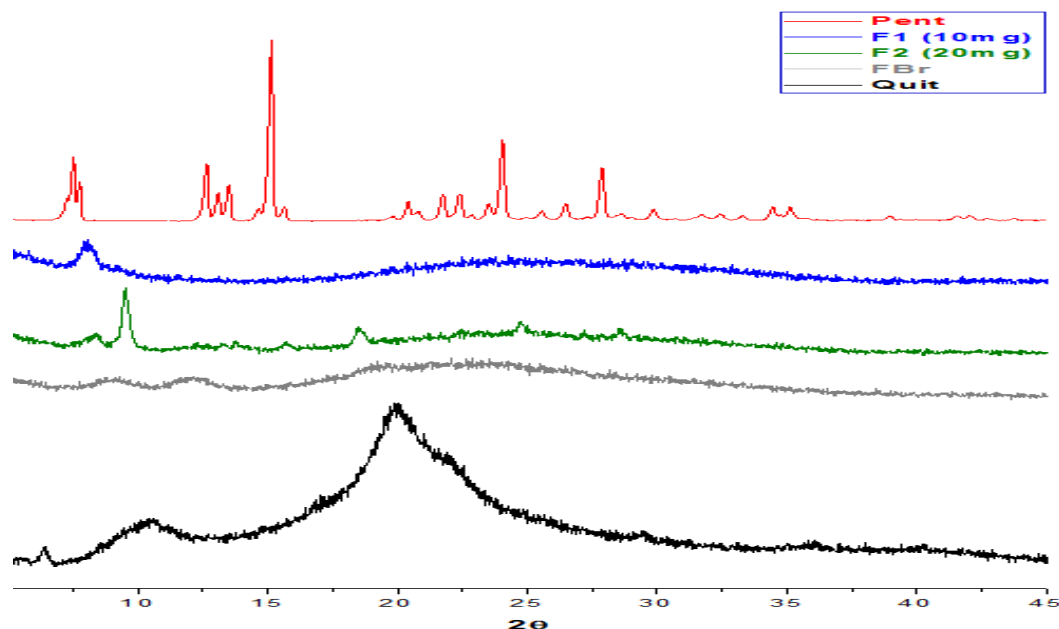
5.2.2 DIFRAÇÃO DE RAIOS-X

Para a detecção de cristalinidade/amorficidade foram testados os padrões para o fármaco e para os filmes (FBr, F1 e F2), seguido da realização de comparações entre estes. Esta técnica ainda permite avaliar a eficiência de encapsulação do fármaco no sistema, bem como sugestões das contribuições do fármaco na amorficidade do sistema.

Analisando os dados cristalográficos obtidos neste teste, a pentoxifilina confirmou sua estrutura cristalina através da presença de reflexões cristalinas bem definidos no difratograma. Este fármaco apresentou uma reflexão

cristalina em $15,16^\circ$, além de outras reflexões cristalinas de maior e outras de menor intensidade em $7,51^\circ$, $12,64^\circ$, $24,03^\circ$ e $27,93^\circ$. Estes dados cristalográficos são mostrados na Figura 10.

Figura 10: Difratoograma de Raio-x da pentoxifilina, dos filmes e da quitosana.



Fonte: A própria autora.

Foi realizada a análise do polímero como padrão para confirmar sua estrutura semicristalina e contribuir na análise do sistema desenvolvido (com e sem fármaco), de modo a inferir nos resultados referente a eficiência de encapsulação da pentoxifilina na formulação.

A difração referente a quitosana, apresentou um halo em $10,52^\circ$, seguido de um halo de maior intensidade e mais largo em $19,95^\circ$. Também é possível observar um discreto e estreito halo em $6,46^\circ$. O filme branco apresentou discretas elevações em $8,57^\circ$ e $11,58^\circ$ característicos dos halos apresentados pela quitosana próximos a esta faixa.

Quando analisados, os filmes (incorporados), com o objetivo de verificar a influência do fármaco na difração do sistema, bem como seu estado físico na formulação, foi possível notar que após a incorporação do fármaco de estrutura cristalina em um sistema estruturalmente semicristalino, a amostra apresentou um perfil semicristalino onde apresentou reflexões cristalográficas

característicos do fármaco. Apesar de ser possível a observação de discretas reflexões de baixa intensidade no difratograma dos filmes, estas reflexões podem ser observadas entre $8,57^\circ$ e $11,58^\circ$ de maior intensidade, seguido de outras entre $18,99^\circ$ e $25,49^\circ$ de menor intensidade; já no filme F1 é possível observar um halo definido em $8,01^\circ$ sugestivo da presença do fármaco neste sistema, visto que a pentoxifilina apresentou uma reflexão cristalina próximo a esta faixa. Em F2 é possível notar um pico estreito em $9,55^\circ$, sugestivo do pico característico do fármaco que foi encontrado próximo a esta faixa, além de um discreto e estreito halo em $18,49^\circ$, seguido uma elevação entre $19,55^\circ$ e $29,88^\circ$, característica da influência da quitosana neste sistema, visto que estes picos estão próximos aos apresentados pela quitosana.

Em estudo realizado por YI e colaboradores (2008) com nimodipino, em que incorporaram este fármaco em um sistema de liberação de fármacos. Este fármaco quando puro apresentou notória cristalinidade, já quando caracterizou-se o sistema, o mesmo apresentou uma visível amorficidade durante toda à análise, mostrando a transição polimórfica do fármaco de sua estrutura cristalina para amorfa, ou para fase cristalina desorganizada, fazendo com que a estrutura do sistema predominasse diante da estrutura do fármaco puro. Resultados semelhantes foram apresentados em estudos realizado por SALARI, M. et al., 2018, e por MESSA, L. L. et al., 2016.

Com base nisto, é possível inferir que algo bastante semelhante ocorreu neste sistema, onde a pentoxifilina perdeu a maioria de seus picos após incorporação na formulação, levando a acreditar que isto ocorreu devido a sua dispersão nos componentes do sistema, refletindo em uma parcial transição polimórfica da pentoxifilina e enfatizando a influência do sistema na presença do fármaco. Desta forma é possível sugerir que houve uma suficiente incorporação da pentoxifilina no sistema polimérico, visto que o fármaco apresentou apenas um único pico no filme F1 e dois picos no filme F2.

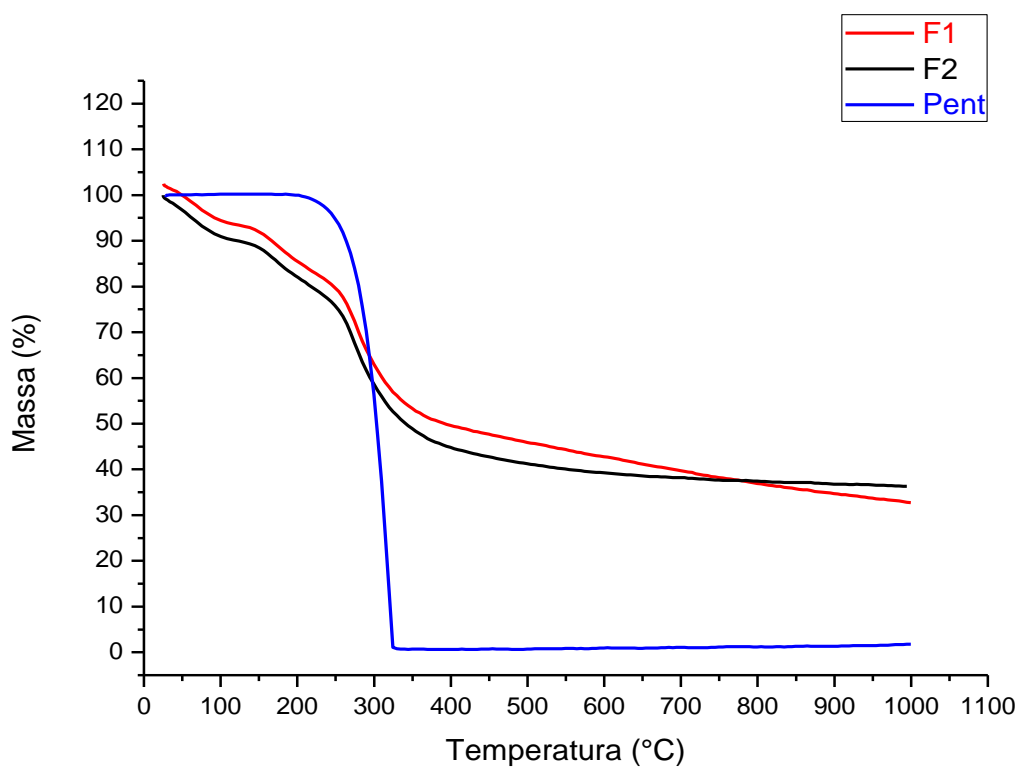
Ainda é possível explicar a parcial perda da cristalinidade da pentoxifilina através das reações físico-químicas decorrentes da mistura entre o fármaco e o polímero quitosana, acarretando em aumento de sua solubilidade, como mostra o estudo realizado por Leuner; Dressman, (2000).

5.3 ANÁLISE TÉRMICA

5.3.1 TERMOGRAVIMETRIA (TG)

Na avaliação da análise termogravimétrica é possível observar perdas e ganhos de massa com o aumento da temperatura. Na Figura 11 é apresentado o termograma da pentoxifilina e dos filmes aqui desenvolvidos. Nesta análise do fármaco, encontramos uma curva correspondente a um único evento de perda de massa, representada por uma marcante degradação que apresenta seu início em cerca de 207,96 °C e finaliza em aproximadamente 330,97 °C correspondendo à volatilização do processo de pentoxifilina, apresentando um percentual de supressão de massa equivalente à 99,14%, valor este, próximo a percentagem encontrada por OLIVEIRA e colaboradores em 2011, quando realizou um estudo para caracterizar este fármaco através de diversas análises, dentre elas a termogravimetria, em que se obteve um percentual de 99,7%.

Analisando as curvas apresentadas pelos filmes F1 e F2 onde provavelmente o fármaco encontra-se encapsulado no retículo do sistema, é possível observar três fases de perda de massa, demonstrando uma degradação do fármaco de forma mais lenta em relação ao aumento da temperatura, acarretando em uma maior estabilidade térmica da pentoxifilina quando submetida a elevadas temperaturas, sendo necessário a submissão deste fármaco a maior energia (temperatura) para que sua degradação ocorra. Este fato pode ser justificado pela suposta eficiente incorporação de forma homogênea no sistema.

Figura 11: Análise termogravimétrica da pentoxifilina e dos filmes.

Fonte: A própria autora.

Abaixo, é apresentado a Tabela 3, representativa dos valores referente a faixa de temperatura onde transcorre cada evento de perda de massa, bem como o percentual destas perdas.

Tabela 3: Representação numérica dos valores de perdas de massa em cada fase.

	Pentoxifilina	Filme 1	Filme 2
T_i (°C)	207,96	113,97	103,50
T_f (°C)	330,97	200,10	197,49
Fase 1	Perda _i	94,14	90,37
	Perda _f	0,4404	82,42
	Perda (%)	99,14%	8,25
T_i (°C)	—	200,10	197,49
T_f (°C)	—	398,78	388,31

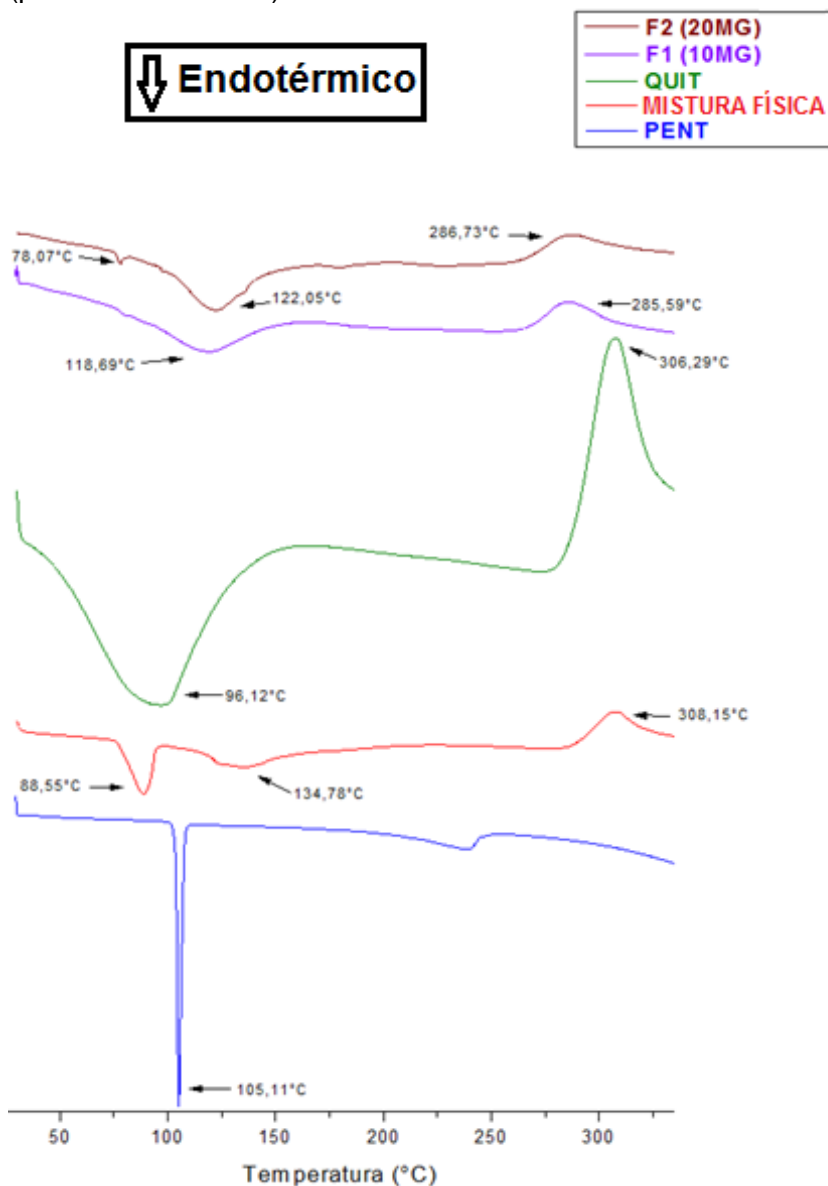
Fase 2	Perda _i	_____	85,77	82,42
	Perda _f	_____	49,40	45,21
	Perda (%)	_____	36,37	37,21
Fase 3	T _i (°C)	_____	398,78	388,31
	T _f (°C)	_____	992,21	981,74
	Perda _i	_____	49,40	45,21
	Perda _f	_____	32,66	36,01
	Perda (%)	_____	16,74	9,2

Fonte: autoria própria.

5.3.2 Calorimetria Diferencial Exploratória (DSC)

As curvas de DSC apresentadas na Figura 12, foram obtidas na faixa de aquecimento de 25°C (temperatura ambiente) à 335°C.

Figura 12: Curvas de DSC da pentoxifilina, da quitosana, da mistura física de pós (polímero e fármaco) e dos filmes F1 e F2.



Fonte: A própria autora.

Analisando a amostra de pentoxifilina, é observado uma transição endotérmica, onde o pico endotérmico corresponde a temperatura de 105,11°C, sendo atribuído ao ponto de fusão deste fármaco. O valor encontrado está de acordo com a literatura que determina a faixa de fusão de 104 – 107°C (FARMACOPÉIA AMERICANA, 2011) e 103-107°C (FARMACOPÉIA BRITÂNICA, 2009) como a faixa de fusão do fármaco. Foi encontrado temperatura de fusão inicial em 100,6°C na amostra de pentoxifilina.

Nas curvas de DSC da quitosana pura, é encontrado um pico endotérmico amplo em 96,12°C correspondente à evaporação da água que se encontra ligada por pontes de hidrogênio com grupos hidroxila da quitosana. Um pico exotérmico também é encontrado nesta amostra, em 306,29°C referente a degradação da quitosana (SANTOS, J. E. et al., 2003; KAYA, M. et al., 2018).

Na mistura de pós observa-se que o pico endotérmico referente a pentoxifilina sofreu deslocamento para 88,55°C, este deslocamento pode ser sugestivo da presença de quitosana na mistura, visto que esta apresenta pico na mesma faixa de temperatura da pentoxifilina. Em seguida, é apresentado um pico endotérmico em 134,78°C, atribuído a evaporação de substâncias voláteis como à água presente na quitosana, que sofreu afastamento para a direita devido ao pico do processo de fusão do fármaco. Mais adiante encontra-se um pico exotérmico em 308,15°C, decorrente do processo de degradação da quitosana.

Analisando o filme F1 (10mg), é notório um pico endotérmico amplo em 118,69°C visualmente semelhante ao pico de evaporação da água presente na quitosana, porém como o pico endotérmico da quitosana e da pentoxifilina, ambas puras, surgem na mesma faixa de temperatura, é possível que tenha ocorrido uma sobreposição dos picos, evento já relatado na literatura (KAYA, M., 2018), e devido ao extensivo pico do polímero, este pode ter “mascarado” o pico do fármaco, outra justificativa para a inibição do pico da pentoxifilina, é a sugestiva incorporação das moléculas do fármaco na matriz da quitosana (MATSUMOTO; ZOGRAFI, 1999), robustecendo a possibilidade de uma eficiente encapsulação, sobretudo quando corroborado com os resultados de FTIR, DRX e TG. Ainda no filme F1, encontra-se um pico exotérmico em 285,59°C, referente a degradação da quitosana.

No filme F2, é apresentado um discreto pico endotérmico em 78,07°C referente ao pico do fármaco que pode ter apresentado sua cristalinidade parcialmente inibida resultando em formas parcialmente amorfas, corroborando com o resultado da análise de DRX. Este pico sofreu deslocamento na faixa de temperatura devido a interação com a quitosana que apresenta um amplo pico na mesma faixa de temperatura. Desta forma, também foi observado um pico

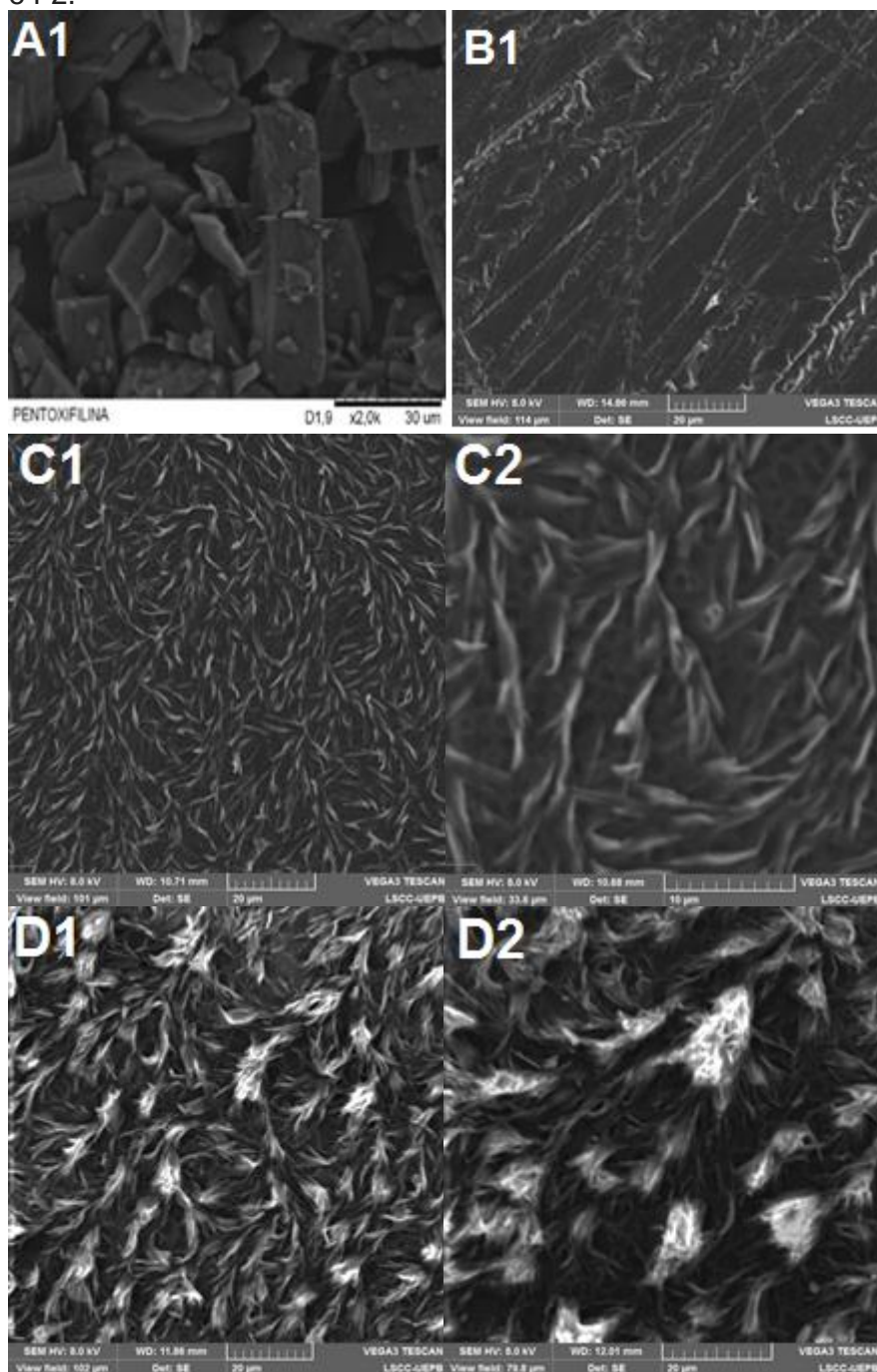
atribuído ao amplo pico da quitosana de perda de água em 122,05°C. Um pico exotérmico é mostrado em 286,73°C decorrente da degradação da quitosana.

5.4 ESTUDO MORFOLÓGICO

5.4.1 Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV)

Os filmes brancos são totalmente incolores, enquanto que os filmes F1 e F2 se apresentam leitosos e de coloração ligeiramente amarelo devido a presença do fármaco. Quanto maior for a concentração de pentoxifilina no sistema, mais intensa será a coloração amarelada deste. A morfologia dos filmes e do fármaco foi analisada por MEV e as micrografias são apresentadas na Figura 13.

Figura 13: Micrografias eletrônicas de varredura da pentoxifilina, dos filmes branco, F1 e F2.



Fonte: A própria autora.

Na imagem A1 observa-se as micrografias referentes a pentoxifilina em pó, onde é possível observar que os cristais apresentam formatos regulares, mas diferem quanto as suas dimensões, o que lhes compete uma certa heterogeneidade.

Analisando microscopicamente o filme branco constituído apenas por quitosana (imagem B1), este apresentou-se como uma matriz compacta, com poucos micropóros e sem defeitos apreciáveis, semelhante aos achados na literatura (YASSUE-CORDEIRO, P. H; ZANDONAI, C. H; SILVA, C. F; FERNANDES-MACHADO, N. R. C., 2015), A fotomicrografia do FBR mostra ranhuras na superfície do filme, as quais são atribuídas as imperfeições da superfície das placas de Petri.

As imagens C1 e C2 ilustram as micrografias dos filmes de quitosana contendo pentoxifilina (10mg), denominados filmes F1. Ao analisar, observa-se que houve incorporação do fármaco no sistema, e que o fármaco encontra-se disperso no filme, de forma homogênea e aparentemente de mesmo tamanho, também é notório a presença de macropóros nestes filmes.

Em D1 e D2, é apresentado a micrografia dos filmes F2, compostos por quitosana e pentoxifilina (20mg), nestas imagens nota-se que também ocorreu a incorporação da pentoxifilina no filme, onde o fármaco também se encontra disperso em todo o sistema, porém, é evidente a presença do fármaco em maior quantidade em relação as micrografias dos filmes F1. Ainda nos filmes F2, observa-se a presença de macropóros, e que algumas partículas do fármaco se encontram agrupadas na forma de aglomerados.

5.5 *Estudo de liberação in vitro de pentoxifilina incorporada nos filmes*

Para os fármacos presentes em formas farmacêuticas de uso tópico exercerem sua ação farmacológica, estes precisam permear a epiderme e serem difundidos no estrato córneo. Porém, isso só é possível se houver uma adequada liberação destes fármacos a partir do sistema no qual estes encontram-se encapsulado. A processo de liberação de fármacos, bem como o mecanismo de permeação, sofre influência de alguns fatores como a capacidade apresentada pelo fármaco em se solubilizar no veículo e na sua atividade termodinâmica (BEMVINDO, 2006).

O estudo de liberação *in vitro* de fármacos de uso tópico visa analisar o potencial que o sistema apresenta em liberar o fármaco que se encontra incorporado neste. Esta técnica permite avaliar ainda a velocidade com que o

fármaco é liberado em relação ao período de tempo decorrido (SILVA, et al., 2010). Desta forma, diversos modelos foram desenvolvidos para avaliar a cinética de liberação dos fármacos presentes em formulações semissólidas, porém, o mais conhecido e que tem sido amplamente utilizado é o modelo de difusão de Franz (PRAÇA, 2010). Por este motivo, este foi o modelo de escolha para a realização deste estudo, em que foi avaliado a liberação de pentoxifilina a partir de sistemas poliméricos na forma de filmes.

Os filmes poliméricos de pentoxifilina na concentração de 10mg durante o estudo do perfil de liberação foram utilizados para atuarem de duas formas. A primeira agindo como membrana e a segunda como sistema doador de fármaco em meio a solução tampão fosfato pH 7,4:etanol (60:40), sob agitação controlada e submetidos a temperatura constante de 37°C durante todo o estudo.

Os valores de pentoxifilina liberados a partir do sistema polimérico no compartimento receptor foram quantificados através de UV-Vis e encontram-se apresentados na Tabela 4 e Tabela 5 referente aos filmes de 10 e 20 mg respectivamente, em que também é demonstrado o percentual de liberação obtidos em cada período de tempo que as amostras foram obtidas durante as 72 horas em que foi realizado o estudo. Este estudo foi realizado em sextuplicata.

Tabela 4: Quantidade de PTX liberada acumulada ($\mu\text{g}/\text{cm}^2$) e porcentagem da quantidade liberada (%) nos respectivos períodos de coleta (h) a partir dos filmes de 10mg.

Tempo (h)	Quantidade de PTX liberada ($\mu\text{g}/\text{cm}^2$) +/- DP	% Liberada
0,25	669,8430 \pm 97,74	36,55%
0,5	738,2393 \pm 13,61	40,28%
1	787,0371 \pm 9,78	42,94%
1,5	816,8883 \pm 6,95	44,57%
2	842,8368 \pm 6,85	45,98%
4	887,5112 +/- 7,73	48,42%
6	928,2081 \pm 9,18	50,64%

8	967,4761 ± 7,01	52,78%
12	1028,7622 ± 11,34	56,13%
18	1125,6948 ± 23,05	61,42%
24	1213,2267 ± 24,26	66,19%
30	1269,6995 ± 23,67	72,35%
36	1318,1824 ± 19,91	75,00%
42	1357,3642 ± 18,07	77,14%
48	1391,4235 ± 15,12	79,00%
72	1459,6688 ± 42,34	82,72%

Fonte: autoria própria.

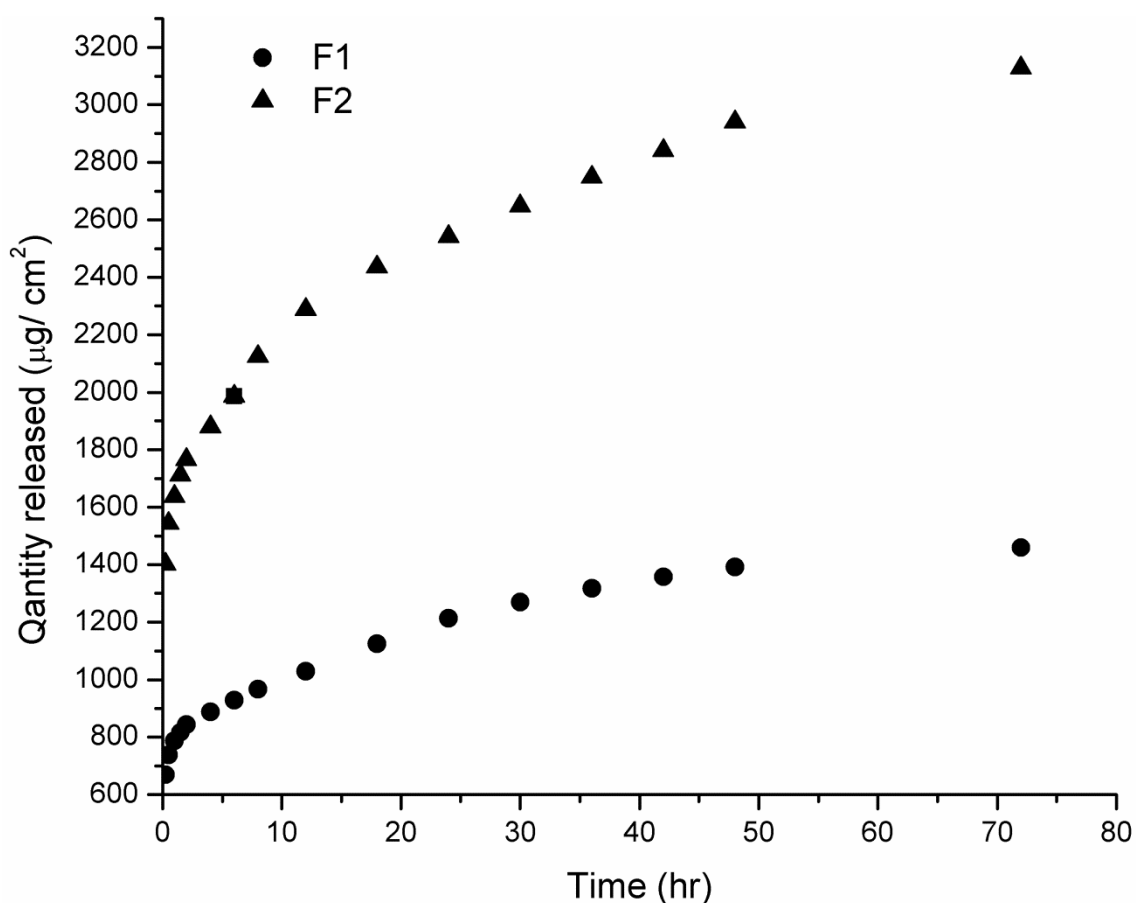
Tabela 5: Quantidade de PTX liberada acumulada ($\mu\text{g}/\text{cm}^2$) e porcentagem da quantidade liberada (%) nos respectivos períodos de coleta (h) a partir dos filmes de 20mg.

Tempo (h)	Quantidade de PENT liberada ($\mu\text{g}/\text{cm}^2$) +/- D.P	% Liberada
0,25	1401,53±190,43	38,54%
0,5	1543,33±7,04	42,44%
1	1637,56±5,43	45,03%
1,5	1711,72±3,94	47,07%
2	1766,41±4,45	48,58%
4	1879,71±8,28	51,69%
6	1986,38±12,30	54,63%
8	2124,96±7,02	58,44%
12	2288,29±8,56	62,93%
18	2435,22±7,13	66,97%
24	2542,16±7,75	69,91%
30	2647,95 ± 6,65	75,23%
36	2747,94 ± 7,30	77,98%
42	2840,71 ± 4,40	80,53%
48	2940,67 ± 13,69	83,28%
72	3119,45 ± 20,15	88,20%

Fonte: autoria própria.

O perfil de liberação do fármaco a partir do sistema é apresentado na Figura 14 para os filmes F1 (10mg) e F2 (20mg) e ocorre em função da quantidade de pentoxifilina liberada em $\mu\text{g}/\text{cm}^2$ em relação ao tempo durante as 72 horas do ensaio. A quantificação do fármaco foi realizada em 272nm, de acordo com o comprimento de onda para quantificação deste fármaco em etanol como preconiza à farmacopéia. Pode-se observar que o perfil de liberação da pentoxifilina no filme F1 (10mg) apresentou uma curva ascendente, chegando a praticamente um platô após 48 h de análise, apresentando liberação de 79% da pentoxifilina presente no filme polimérico, chegando a 82,72% ao término do estudo (72h). No filme F2 (20mg) a pentoxifilina apresentou um perfil de liberação semelhante ao F1, originando também uma curva ascendente e uma liberação correspondente a 83,28% após 48 horas, e 88,20% ao final do estudo, em 72 horas.

Figura 14: Perfil de liberação da pentoxifilina ($\mu\text{g}/\text{cm}^2$) a partir dos filmes F1 (10mg) e F2 (20 mg) em relação ao tempo (h).

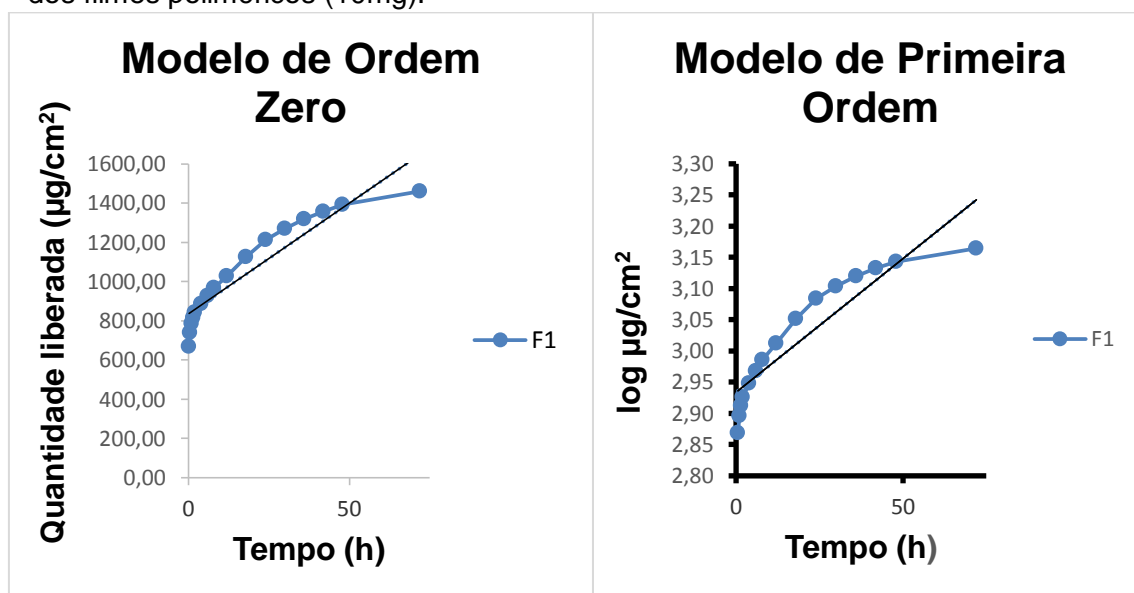


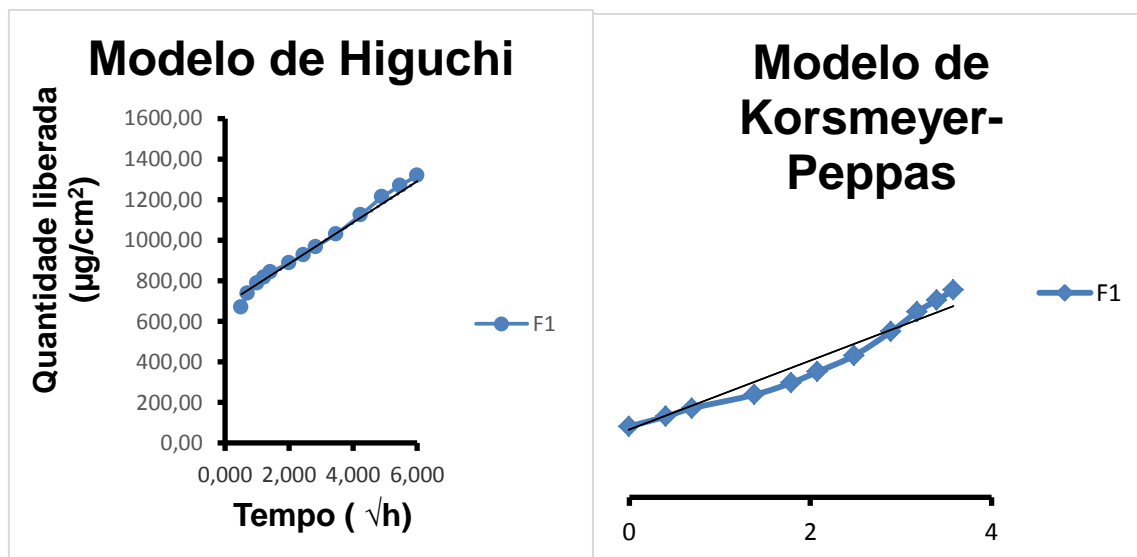
Fonte: A própria autora.

Já conhecendo os valores liberados de pentoxifilina relacionados a área de difusão submetida neste ensaio, realizou-se uma interpretação mais aprofundada para determinar o modelo cinético que apresente a melhor relação com o perfil de liberação deste fármaco quando incorporado em filmes. Para isto, foram usados os modelos cinéticos, afim de avaliar qual destes modelos está sendo seguido pelo perfil de liberação do fármaco a partir do filme. Os modelos empregados nesse estudo foram os de ordem zero, primeira ordem, Higuchi e Korsmeyer-Peppas.

Após submeter a liberação *in vitro* da pentoxifilina incorporada no filme polimérico F1 a estes modelos cinéticos, obteve-se o gráfico representativo de cada perfil, como é mostrado na Figura 15.

Figura 15: Modelos cinéticos empregados ao perfil de liberação de pentoxifilina dos filmes poliméricos (10mg).

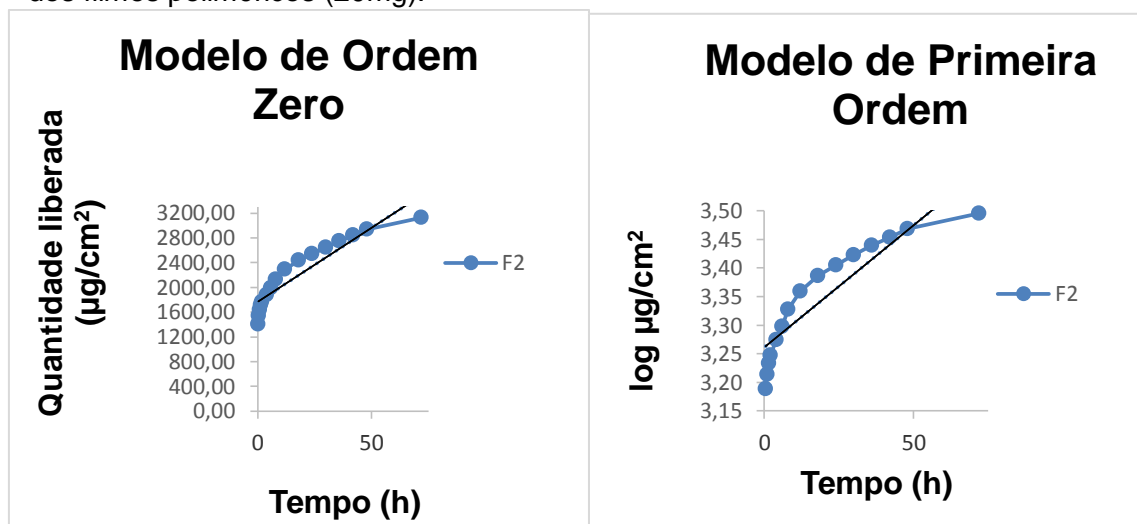


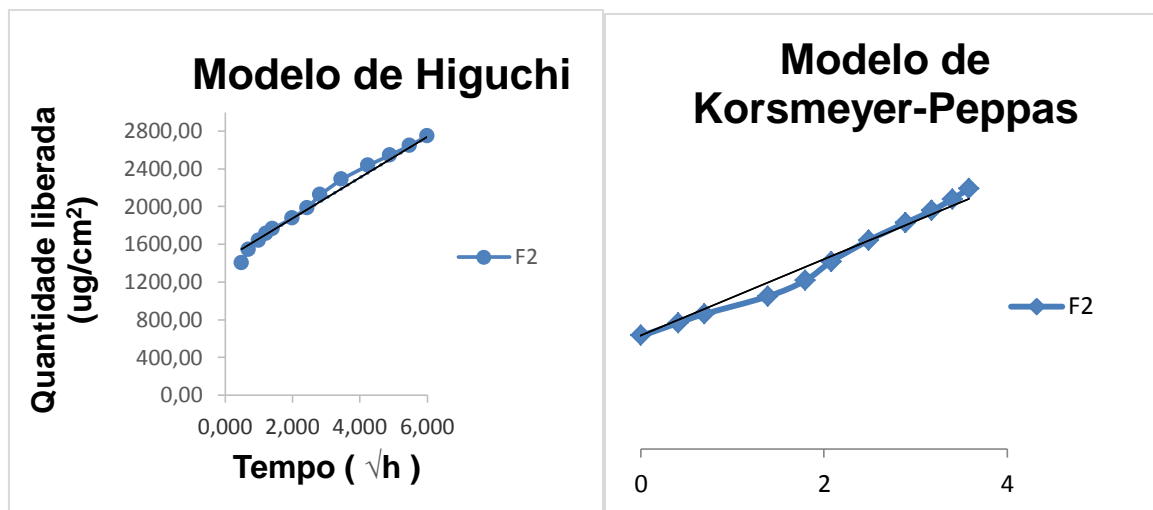


Fonte: A própria autora.

Na Figura 16 é apresentado os gráficos que retratam o perfil dos quatro modelos cinéticos referentes a liberação *in vitro* da pentoxifilina reticulada nos filmes de quitosana na concentração de 20mg, denominados filmes F2.

Figura 16: Modelos cinéticos empregados ao perfil de liberação de pentoxifilina dos filmes poliméricos (20mg).





Fonte: A própria autora.

A Tabela 6 e Tabela 7 trás os modelos acompanhados de suas respectivas equações da reta e o coeficiente de correlação linear (r) usado como critério de escolha para a determinação do modelo escolhido mais correlacionado ao perfil de liberação da pentoxifilina a partir deste sistema com fármaco incorporado na concentração de 10mg e 20 mg, respectivamente.

Tabela 6: Coeficiente de correlação linear como fator determinante para a escolha da ordem de liberação da PENT a partir do filme polimérico F1 (10mg).

Amostra	Equações da reta	Coeficiente de correlação linear (r)	Modelos cinéticos	Modelo escolhido
Filme de Pentoxifilina 10 mg	$y = 0,1301x + 6,6565$	0,9817	Korsmeyer-Peppas	Higuchi
	$y = 11,294x + 834,67$	0,9364	Ordem zero	
	$y = 0,0043x + 2,9341$	0,9189	Primeira Ordem	
	$y = 101,6x + 681,2$	0,9924	Higuchi	

Fonte: autoria própria.

Tabela 7: Coeficiente de correlação linear como fator determinante para a escolha da ordem de liberação da PENT a partir do filme polimérico F2 (20mg).

Amostra	Equações da reta	Coeficiente de correlação linear (r)	Modelos cinéticos	Modelo escolhido
Filme de Pentoxifilina 10 mg	$y = 0,1343x + 7,4014$	0,9916	Korsmeyer-Peppas	Higuchi
	$y = 23,863x + 1771,2$	0,9315	Ordem zero	
	$y = 0,0043x + 3,2609$	0,9086	Primeira Ordem	
	$y = 215,73x + 1443,1$	0,9921	Higuchi	

Fonte: autoria própria.

De acordo com o maior valor do coeficiente de correlação linear (r), pôde-se determinar que a liberação da pentoxifilina a partir do filme polimérico em ambas as concentrações seguem o modelo de Higuchi, que preconiza como fator limitante o processo de difusão do fármaco através da matriz polimérica, de forma que qualquer outro parâmetro não é capaz de apresentar influência significativa sob este processo. Desta forma, o modelo de Higuchi apresenta uma relação linear decorrida entre a quantidade de fármaco liberada e a raiz quadrada do tempo (TOSCANO, et al., 2001).

Em estudo realizado por CAVALCANTI e colaboradores em 2016, foi avaliado o perfil de liberação da pentoxifilina a partir de uma solução, onde obteve-se uma crescente liberação deste fármaco seguida da formação de um platô. Desta forma, em comparação com este estudo é possível inferir que a formulações aqui desenvolvidas na forma de filme polimérico contendo este fármaco, apresentou perfil de liberação semelhante, porém neste estudo é importante enfatizar que este platô se mantém ao longo de 72 horas, visto que no estudo realizado por Cavalcanti, é avaliado a liberação deste fármaco apenas até 24 horas.

5.6 ESTUDO IN VIVO

5.6.1 Análise morfométrica das feridas cutâneas

A análise morfométrica das feridas foi realizada comparando-se as áreas da feridas nos diversos dias após a lesão (dias 4, 6 e 9) com área da ferida no dia 2 (onde as áreas neste dia foram consideradas como sendo 100%).

Como podemos observar na Figura 17, no dia 4 após a lesão, o grupo tratado com o filme F2 (20 mg) apresentou uma área de ferida significativamente menor que todos os outros grupos ($p < 0,05$; ANOVA de uma via seguida pelo teste de Neuman-Keuls). Os grupos tratados com salina (SALINA), filme branco (FBr) ou filme F1 (10mg) não apresentaram entre eles diferenças estatísticas significativas no tamanho de suas feridas.

De forma semelhante, quando avaliamos as feridas no dia 6 após a lesão, observamos que o grupo do filme F2 apresentou feridas com tamanhos menores comparado com os outros grupos, sendo estatisticamente significativa esta diferença em relação aos grupos FBr e F1.

O grupo pomada apresentou diferença significativa em relação a todos os demais grupos em todos os dias analisados (dias 4,6 e 9), sempre apresentando lesão com maior diâmetro que os demais grupos.

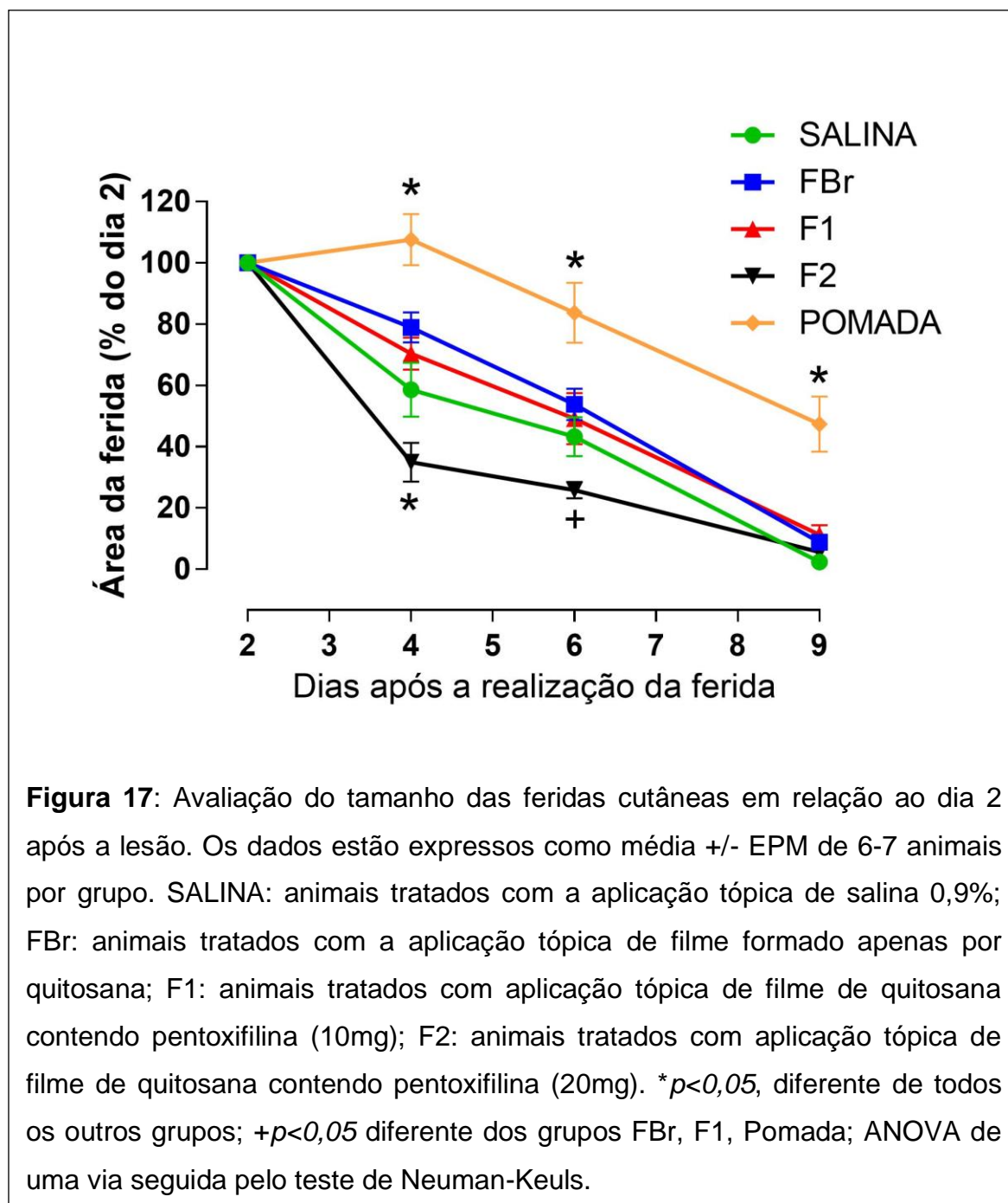
No dia 9 após a lesão, o grupo pomada havia reduzido em aproximadamente 50% a área da lesão, enquanto os outros grupos estavam finalizando o processo cicatricial com a ferida fechada. Este ocorrido pode ser sugestivamente justificado pelas diferentes propriedades das formulações utilizadas, pois os filmes oriundos do biopolímero quitosana apresentam boa aderência as camadas da pele pois possuem propriedades bioadesivas, além de ser uma formulação considerada elástica e quando comparado com a pomada reporta estas vantagens, pois devido a sensação pegajosa da pomada e devido esta não possuir boa capacidade de adesão como os filmes, ela apresenta maior facilidade de ser retirada da área da lesão, visto que os camundongos podem ter encostado nas paredes das caixas gaiolas e até mesmo quando estes iam dormir podem ter uns retirado a pomada da lesão dos outros acidentalmente através do contato entre eles, já que estes dormem amontoados, uns em cima dos outros (CLOUTIER., MANTOVANI., ROSEI., 2015; PAVINATTO, F. J. 2010).

Desta forma torna-se evidente a importância e vantagens das novas formas farmacêuticas frente as formas farmacêuticas convencionais, onde neste caso fica claro que a grande aderência dos filmes na lesão permitiu uma liberação do fármaco por um período de tempo maior em relação a pomada, além de uma liberação controlada como foi observado no ensaio de liberação destes filmes desenvolvidos, fator preponderante para este resultado e que sugestivamente foi uma das possíveis contribuições para uma cicatrização mais rápida nos animais tratados com filmes, além de não comprometer a farmacoterapia devido sua adesão. Estes filmes também apresentam micropóros que permitem uma maior circulação de oxigênio no local da lesão acarretando em aceleração na cicatrização das feridas, visto que a pomada não reporta a mesma propriedade (KAMOUN; KENAWY; CHEN, 2017).

Outro fator sugestivo para justificar a grande variação da cicatrização entre o grupo pomada em relação aos grupos FBr, F1 e F2, é que o processo cicatricial normalmente ocorre entre 12 a 16 dias (inclusive os tratados com formas farmacêuticas convencionais como a pomada), porém por se tratar de uma nova forma farmacêutica os tratamentos realizados neste estudo com os filmes aceleraram o processo de cicatrização para 9 dias (CAMPOS, A. C. L., BRANCO, A. B., GROTH, A. K., 2007).

No dia 9 após a lesão, todos os grupos apresentaram feridas de tamanhos semelhantes. Na Figura 17 é apresentado o gráfico representativo da avaliação do tamanho das feridas em relação ao dia 2 após a lesão.

Figura 17: Avaliação do tamanho das feridas cutâneas em relação ao dia 2 após a lesão



representativas das lesões de cada grupo nos dias 2, 4, 6 e 9 respectivamente, após o desencadeamento da lesão.

Figura 18: Imagens das lesões no dia 2 após o desencadeamento da lesão.

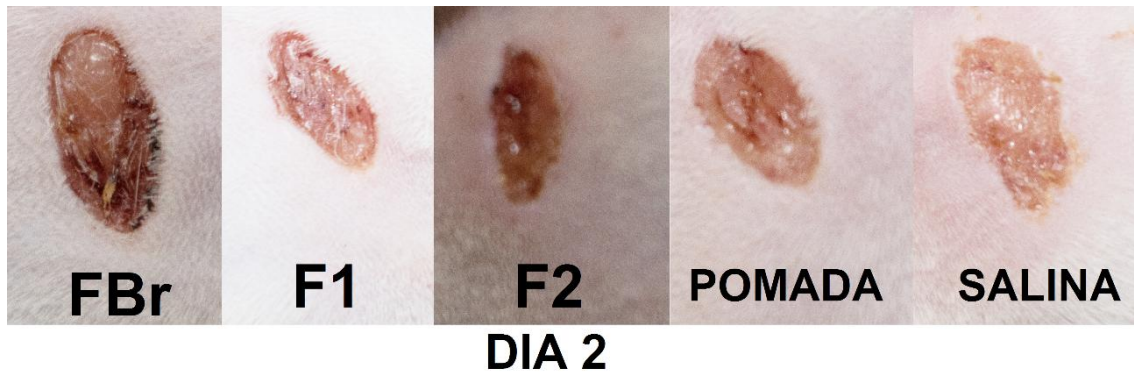


Figura 19: Imagens das lesões no dia 4 após o desencadeamento da lesão.

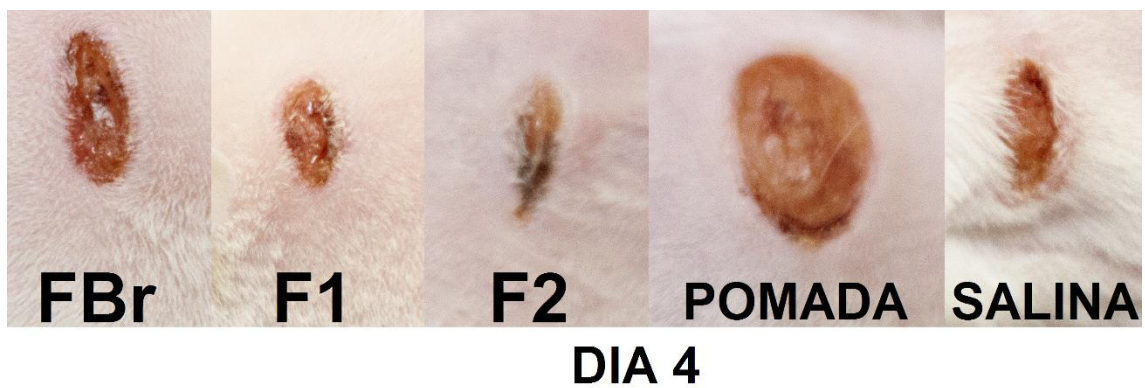


Figura 20: Imagens das lesões no dia 6 após o desencadeamento da lesão.

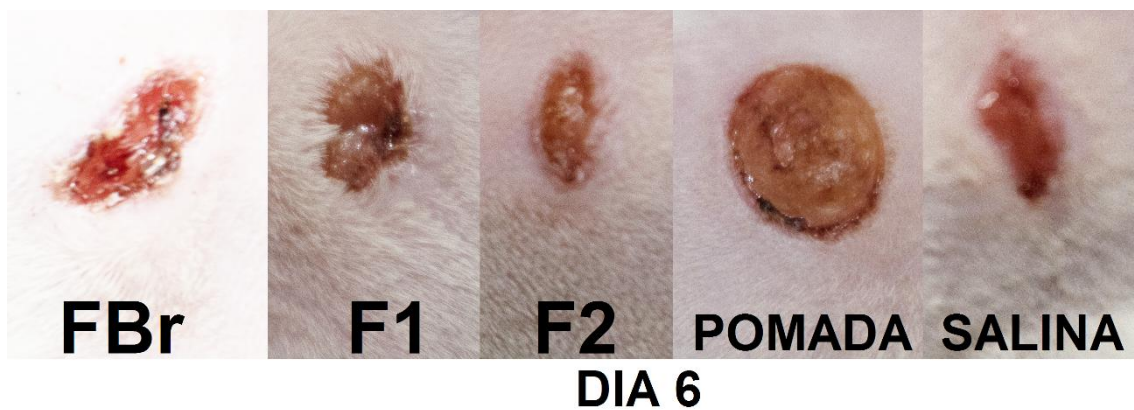
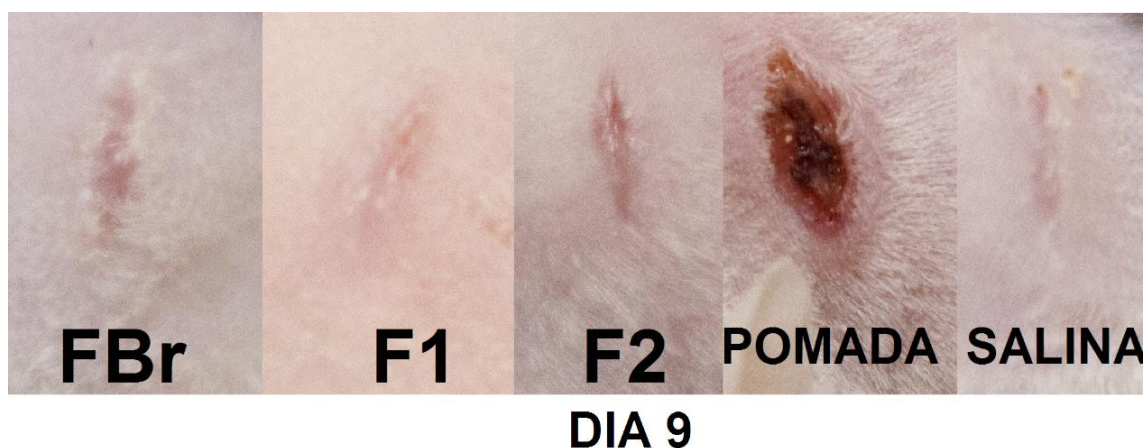


Figura 21: Imagens das lesões no dia 9 após o desencadeamento da lesão.



5.6.2 ESTUDO MICROBIOLÓGICO

A Tabela 8 apresenta as bactérias encontradas em cada período de coleta, bem como o tratamento com filme FBr usado nos três camundongos. Enquanto a Tabela 9 trás as bactérias presentes nos animais tratados com o filme F2 e a Tabela 10 representa as bactérias presentes nos animais tratados com salina.

Tabela 8: Bactérias encontradas nas feridas tratadas com FBr nas três coletas.

AMOSTRA	PRIMEIRA COLETA	SEGUNDA COLETA	TERCEIRA COLETA
FBr (camundongo 1)	<i>Staphylococcus aureus/</i>	<i>Staphylococcus aureus/</i>	<i>Hafnia alvei</i>
	<i>Enterobacter gergoviae</i>	<i>Citrobacter freundii</i>	
	<i>Staphylococcus aureus/</i>	<i>Staphylococcus aureus/</i>	<i>Staphylococcus aureus</i>
FBr (camundongo 2)	<i>Enterobacter gergoviae</i>	<i>Escherichia coli</i>	
	<i>Staphylococcus aureus/</i>	<i>Staphylococcus aureus/</i>	
	<i>Enterobacter gergoviae</i>	<i>Citrobacter</i>	
FBr (camundongo 3)	<i>Staphylococcus aureus/</i>	<i>Staphylococcus aureus/</i>	Nenhuma bactéria
	<i>Enterobacter gergoviae</i>	<i>Citrobacter</i>	

*gergoviae**freundii***Tabela 9:** Bactérias encontradas nas feridas tratadas com F2 nas três coletas.

AMOSTRA	PRIMEIRA COLETA	SEGUNDA COLETA	TERCEIRA COLETA
F2 (Camundongo 1)	<i>Staphylococcus aureus/ Enterobacter aerogenes</i>	<i>Staphylococcus aureus/ Escherichia coli</i>	<i>Staphylococcus aureus/ Enterobacter aerogenes</i>
F2 (Camundongo 2)	<i>Staphylococcus aureus/ Escherichia coli Staphylococcus</i>	<i>Staphylococcus aureus/ Escherichia coli</i>	<i>Staphylococcus aureus</i>
F2 (Camundongo 3)	<i>Staphylococcus aureus/ Enterobacter aerogenes</i>	<i>Staphylococcus aureus</i>	Nenhuma bactéria

Tabela 10: Bactérias encontradas nas feridas tratadas com salina (controle negativo) nas três coletas.

AMOSTRA	PRIMEIRA COLETA	SEGUNDA COLETA	TERCEIRA COLETA
Salina (Camundongo 1)	<i>Staphylococcus aureus/ Enterobacter aerogenes Staphylococcus</i>	<i>Staphylococcus aureus/ Escherichia coli</i>	<i>Staphylococcus aureus</i>
Salina (Camundongo 2)	<i>Staphylococcus aureus/ Enterobacter gergoviae Staphylococcus</i>	<i>Staphylococcus aureus</i>	<i>Staphylococcus aureus</i>

Salina	<i>aureus/</i>	<i>Staphylococcus</i>	<i>Staphylococcus</i>
(Camundongo 3)	<i>Enterobacter</i>	<i>aureus/</i>	<i>aureus</i>
	<i>aerogenes</i>	<i>Escherichia coli</i>	

Com relação ao FBr (1) observou-se na primeira coleta a presença de 2 bactérias: *Staphylococcus aureus* (*S. aureus*) e *Enterobacter gergoviae* (*Ent. gergoviae*). Segundo Pires, C. A. e colaboradores (2015) *S. aureus* é um microorganismo bastante comum em infecções de pele, assim como *Ent. gergoviae* que é uma bactéria muito comum no trato gastrointestinal (ALVES, R. P. R., 2011; KONEMAN, et al., 2008), e assim sendo, os animais podem ter contraído a partir de suas próprias excretas.

Na segunda coleta, observou-se a presença de *Citrobacter freundii* que também apresenta contaminação a partir de fezes, e de *S. aureus*, porém, na terceira coleta o *S. aureus* foi inibido. Isto pode ter ocorrido devido ao maior tempo (6 dias) de tratamento com o filme. Ainda na terceira coleta foi detectado apenas *Hafnia alvei*. O fato deste microorganismo ter sido encontrado apenas nesta última análise pode ser consequência da presença de dejetos fecais na caixa gaiola onde os animais se encontravam mantidos, além de ter sido encontrado resquícios de fezes na lesão deste animal durante o estudo, que reforça esta contaminação.

Na análise do FBr (2) é possível observar que este apresentou as mesmas bactérias da amostra anterior (FBr 1) durante a primeira coleta, enquanto na segunda coleta o filme de quitosana inibiu a *Enterobacter gergoviae*. Porém, houve colonização da *Escherichia coli* (*E. coli*) no local da lesão, isto pode ser decorrente do ambiente em que o camundongo se encontrava, visto que por se tratar de uma enterobactéria, esta é facilmente contaminável através de urina e fezes que podem ter ocasionado esta contaminação devido o contato com estes animais no meio em que viviam. Na terceira coleta o sistema polimérico foi capaz de inibir a presença de *E. coli*, onde foi encontrado apenas *S. aureus* que pode ser oriunda da mesma cepa presente nas coletas anteriores ou o sistema polimérico pode ter inibido o *S. aureus* presente na segunda coleta e ter ocorrido uma nova colonização de

uma nova cepa, visto que não é possível ter esta confirmação, pois não foi feito o teste de sonda genética para identificar o DNA destes microorganismos.

Na amostra do FBr (3), observa-se que este apresentou na primeira e segunda coleta as mesmas bactérias do FBr(1), onde na terceira coleta não foi encontrado nenhuma bactéria colonizada, isto se deve a atividade antibacteriana da quitosana já relatada na literatura por KILICARSLAN, et al., (2018), e que estava presente no filme, que inibiu as três bactérias presente nesta amostra: *S. aureus*, *Enterobacter gergoviae* e *Citrobacter freundii*.

Analisando a amostra F20 (1) foi observado a presença de *S. aureus* e *Enterobacter aerogenes* na primeira coleta, por se tratar de uma enterobactéria esta é bastante comum no trato gastrointestinal e desta forma pode ter contaminado a lesão através do contato com os dejetos fecais destes animais.

Na segunda coleta foi possível observar que o *S. aureus* permaneceu presente, enquanto o filme F20 (1) inibiu a *Enterobacter aerogenes*. Houve também a colonização da *Escherichia coli* que pode ter sido adquirida através do contato deste animal com a urina. Na terceira coleta o *Enterobacter aerogenes* voltou a colonizar a lesão, isto se deve devido a uma possível contaminação cruzada. Também houve resistência do *S. aureus* que também se manteve presente nesta coleta.

Na análise do F20 (2), durante a primeira e segunda coleta foram encontrado os mesmos microorganismos: *S. aureus* e *Escherichia coli*, onde a *E. coli* só foi inibida ao analisar a terceira coleta, fator que se deve devido ao tempo de tratamento com o filme contendo o fármaco. Nesta coleta o *S. aureus* apresentou resistente frente ao filme contendo pentoxifilina.

Durante a primeira coleta do filme F20 (3) foi encontrado *S. aureus* e *Enterobacter aerogenes*, porém na segunda coleta este filme já apresentou atividade frente a *Ent. aerogenes*, sendo encontrado desta forma apenas o *S. aureus*. Na terceira coleta não foi observado nenhum microorganismo, visto que o filme contendo pentoxifilina conseguiu inibir a presença de *S. aureus*.

No grupo Salina que foi usado como controle negativo, as amostras 4 e 6, apresentaram perfis semelhantes, onde na primeira coleta foi observado a presença de duas bactérias: *S. aureus* e *Ent. aerogenes*, porém a salina inibiu a *Ent. aerogenes* na segunda coleta, onde foi observado a resistência de *S.*

aureus e a colonização de *E. coli*. Na terceira coleta pode observar que a salina inibiu a *E. coli*, porém o *S. aureus* apresentou resistência bacteriana.

Na amostra 5 do grupo salina, foi observado na primeira coleta a presença de *S. aureus* e *Ent. gergoviae*, enquanto que apenas o *S. aureus* se manteve presente nas coletas posteriores.

Desta forma é possível inferir que os filmes F20 e FBr apresentaram atividade frente as bactérias *E. coli*, *Citrobacter freundii* e *Ent. gergoviae*, e em apenas um caso houve a presença de *Ent. aerogenes* na terceira coleta, visto que se deve a possível contaminação cruzada. Os filmes FBr apresentaram atividade frente a *S. aureus* que é o microorganismo de maior interesse neste estudo, visto que entre todos os microorganismos presente, este é o único comum em infecções de pele, desta forma observou-se que ocorreu a inibição da maioria das amostras onde esta bactéria se encontrava presente, e em apenas um caso isolado foi encontrado *S. aureus*, que pode ser oriundo de uma nova colonização.

Com base nestes resultados, é possível inferir que o filme FBr apresentou melhor atividade frente a estes microorganismos quando comparado ao controle negativo (salina), sobretudo porque a salina não foi capaz de inibir as cepas de *S. aureus* em nenhuma de suas amostras, visto que este é o microorganismo de maior interesse neste estudo.

Outro fator que pode justificar a grande resistência de *S. aureus* nesse estudo se dar devido a estrutura da parede celular de bactérias Gram positivas (+), como é o caso deste microorganismo, pois a parede destes é formada por muitos peptidoglicanos, que acaba dificultando a destruição desta parede (OLIVEIRA, R. T. M, 2015; MURRAY, 1998). Enquanto bactérias Gram negativas (-) como é o caso das enterobactérias apresentam pouca quantidade de peptidoglicano presente em sua parede celular, que torna propicia sua destruição com maior facilidade.

Considerações Finais

6 CONSIDERAÇÕES FINAIS

- Foram desenvolvidos filmes branco (FBr) e filmes de quitosana contendo pentoxifilina F1 (10 mg) e F2 (20 mg).
- Em análise de infravermelho os filmes F1 e F2 que apresentaram bandas semelhantes, e todas características de bandas da pentoxifilina e da quitosana, sugerindo que o fármaco foi incorporado com eficiência no sistema.
- No difratograma os filmes contendo o fármaco apresentaram-se parcialmente amorfo, pois apresentaram poucos picos oriundos da pentoxifilina, ainda assim é possível inferir uma transição no perfil do fármaco quando comparado com a análise deste antes da incorporação.
- A microscopia eletrônica de varredura confirmou a incorporação da pentoxifilina nos filmes de quitosana de forma eficaz, demonstrando que o fármaco se encontrava de forma homogênea e totalmente disperso no sistema, corroborando com os resultados do FTIR e DRX.
- Ainda foi observado nesta análise do MEV a presença de muitos póros nos filmes que continham o fármaco, o que é bastante satisfatório, pois a presença destes póros permite uma liberação controlada da pentoxifilina a partir deste sistema, fato que foi comprovado no estudo de liberação *in vitro*.
- O estudo de liberação do filme F1 apresentou um perfil de liberação controlada durante as 72 horas do estudo, acarretando na formação de um platô, seguindo o modelo de Higuchi.

- O filme F2 apresentou em seu estudo cinético um percentual de liberação de 88,46%, enquanto o filme F1 liberou cerca de 82,72% ao final do estudo. O filme F2 seguiu o mesmo modelo cinético do filme F1, o modelo de Higuchi.
- Este estudo de liberação demonstrou uma satisfatória liberação ao término do estudo, com base na quantidade liberada de fármaco a partir do sistema, porém não demonstrou uma diferença significativa entre 48 e 72 horas no percentual de liberação do filme F1, diferentemente do filme F2 que apresentou uma diferença significativa neste intervalo de tempo.
- O estudo *in vivo* apresentou resultado satisfatório no tratamento utilizando o filme F2, pois demonstrou uma diferença significativa em relação a todos os demais tratamentos no 4º dia.
- No dia 9 o grupo pomada apresentou uma redução da área da lesão de aproximadamente 50% em relação a área da lesão no dia 0. Os demais grupos de tratamento apresentaram uma redução de aproximadamente 80% em relação a área da lesão no dia 0.
- No estudo microbiológico, nos três tratamentos (FBr, F2 e salina) houve inibição nas diversas cepas que colonizaram a lesão, exceto *Staphylococcus aureus*, pois apenas o tratamento com o filme FBr foi capaz de inibir algumas cepas desta bactéria, enquanto o grupo salina apresentou resistência em todas elas.

Referências

7 REFERÊNCIAS

ABDOU, H. M. Dissolution, Bioavailability and Bioequivalence. Easton: Mack Publishing Company, p. 544, 1989.

ANSEL, H. C.; ALLEN JR., L.V.; POPOVICH, N. G., et al. Formas farmacêuticas e Sistemas de Liberação de Fármacos. 8ª Edição: Editora Artmed., p.775, 2007.

ARIAS-DIAZ, J.; VARA, E.; TORRES-MELERO, J.; GARCIA, C.; HERNÁNDEZ, J.; BALIBREA, J.L. Local production of oxygen free radicals and nitric oxide in rat diaphragm during sepsis: effects of pentoxifylline and somatostatin. The European Journal of Surgery, v. 163, p. 619-625, 1997.

ASFOUR, M. H., ELMOTASEMA, H., MOSTAFAA, D. M., SALAMA, A. A. A. Chitosan based Pickering emulsion as a promising approach for topical application of rutin in a solubilized form intended for wound healing: In vitro and in vivo study. **International Journal of Pharmaceutics**, 2017.

ASSIS, O. B. G., ALVES, H. C. Metodologia mínima para produção de filmes comestíveis de quitosanas e avaliação preliminar de seu uso como revestimento protetor em maçãs cortadas. Comunicado Técnico – Embrapa instrumentação Agropecuária, p. 5, 2002.

ASSIS, O. B. G.; VIEIRA, D. C.; VASQUES, R. A.; CAMPANA-FILHO, S. P. et al. Formed-in-place chitosan carboxymethylcellulose supported microfiltration membranes for water purification. In: International Symposium on Natural Polymers and Composites, 2001, S. Pedro, SP. Anais, 2002.

AULTON, M.E. Delineamento de formas farmacêuticas. 2ª ed. Porto Alegre: Artmed, 2005.

BÁFICA, A.; OLIVEIRA, F.; FREITAS, L.A.; NASCIMENTO, E.G.; BARRAL, A. American cutaneous leishmaniasis unresponsive to antimonial drugs: successful treatment using combination of N-methylglucamine antimoniate plus pentoxifylline. **International Journal of Dermatology**, v.42, p. 103-2017, 2003.

BALASSA LL, PRUDDEN JF. Chitosan, a wound healing accelerator. Proc. 1st Int. Congr. Chitin/Chitosan (R.A.A. Muzarelli and Pariser E.R., eds.) 1978, Cambridge, MA.

BANAKAR, U. V. Pharmaceutical Dissolution Testing. New York, Marcel Dekker, p. 437, 1992.

BEMVINDO, C. S. **Estudo Comparativo da Liberação e Penetração Cutânea de Nitrato de Miconazol de Emulsões Tópicas Comerciais**. 2006.

Dissertação (Mestrado em Ciências Farmacêuticas) – Faculdade de Farmácia, Universidade Federal do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro, 2006.

BOATENG, J. S., MATTHEWS K. H., STEVENS H. N. E, ECCLESTON, G.M. Wound healing dressings and drug delivery systems: A review, **Journal of Pharmaceutical Sciences**, v. 97, n. 8, p. 2892-2923, 2008.

BOATENG, J., CATANZANO, O. *Advanced Therapeutic Dressings for Effective Wound Healing—A Review*. **Journal of Pharmaceutical Sciences**. v. 104, n. 11, p. 3653-3680, 2015.

BRAIN, K. R.; GREEN, D. M.; LALKO, J.; API, A. M. *In vitro* human skin penetration of the fragrance material geranyl nitrile. **Toxicology In Vitro**, v. 21, n.1, p. 133-8, 2007.

BRITISH PHARMACOPOEIA. 7. Ed. London, 2009.

BRITTAIN, H.G. **Analytical Profiles of Drug Substances and Excipients**. Academic Press, p. 582, 1998.

ÇAKMAK, S. K.; ÇAKMAK, A.; GONUL, M.; KILIÇ, A.; GUL, U. Pentoxifylline Use in Dermatology, **Inflammation & Allergy – Drug Targets**, v. 11, p. 422-432, 2012.

CAMPOS, A. C. L., BRANCO, A. B., GROTH, A. K. Cicatrização de feridas. **ABCD Arquivo Brasileiro de Cirurgia Digestiva**, v. 20, n. 1, p. 51-58, 2007.

CANELLA, K. M. N. C.; GARCIA, R. B. Caracterização de quitosana por Cromatografia de permeação em gel – influência do método de preparação e do solvente. **Química Nova**, São Paulo, v. 24, n. 1, p. 13-17, 2001.

CARVALHO, J. C. T. Fitoterápicos anti-inflamatórios: aspectos químicos, farmacológicos e aplicações terapêuticas. Ribeirão Preto: **Tecmedd**, 2004.

CAVALCANTI, A. L. M., REIS, M. Y. F. A., SILVA, G. C. L., RAMALHO, I. M. M., GUIMARÃES, G. P., SILVA, J. Á., SARAIVA, K. L. A., DAMASCENO, P. G. L. Microemulsion for topical application of pentoxifylline: In vitro release and in vivo evaluation. **International Journal of Pharmaceutics**, 2016.

CFMV. **Resolução N° 1000/2012: Dispõe sobre procedimentos e métodos de eutanásia em animais e dá outras providências**: secondary title. Brasília-DF: Conselho Federal de Medicina Veterinária, 2012.

CHORILLI, M.; BRIZANTE, A.C.; RODRIGUES, C.A.; SALGADO, H.R.N. Aspectos gerais em sistemas transdérmicos de liberação de fármacos. **Revista Brasileira de Farmácia**, v.88, n.1, p. 7-13, 2007.

CHOWDARY, K.P.R.; RAJYALASHMI, Y. Dissolution rate in modern pharmacy. **East Pharm New Delhi**, v.30, p. 51-54, 1987.

CIARLILLO, D.; CELESTE, C.; CARMELIET, P.; BOERBOOM, D.; THEORET, C. A hypoxia response element in the Vegfa promoter is required for basal

Vegfa expression in skin and for optimal granulation tissue formation during wound healing in mice. **Plos One**, v. 12, n. 7, p. e0180586, 2017.

CLOUTIER, M., MANTOVANI, D., ROSEI, F. Antibacterial Coatings: Challenges, Perspectives and Opportunities. **Trends in Biotechnology**. v. 33, n. 11, p. 637-652, 2015.

COLLINS, T. Acute and chronic inflammation. In: COTRAN, R.S.; KUMAR, V.; COLLINS, T (Eds.). Robbins pathologic basis of disease. 6th ed. Philadelphia: Saunders. n. 3, p. 50-88, 1999.

COSTA SILVA H. S. R.; SANTOS K. S. C. R.; FERREIRA E. I., "Quitosana: derivados hidrossolúveis, aplicações farmacêuticas e avanços". **Química Nova**, v. 29, n. 4, p. 776-785, 2006.

COSTA, P.; LOBO, J. M. S. Modeling and comparison of dissolution profiles. **Journal of Pharmaceutical Sciences**, Amsterdam, v. 13, n. 2, p. 123-133, 2001.

DAMASCENO, B. P. G. L., SILVA, J. A., BEDOR, D. C. G., OLIVEIRA, A. G. E., EGITO, E. S. T., SANTANA, D. P. Physicochemical Characterization and Development of a Microemulsion System for Transdermal Use. **Journal of Dispersion Science and Technology**. 2010; 31(1):1–8, (2010b).

DAMASCENO, B.P.G.L., SILVA, J.A., APOLINÁRIO, A.C., SOUZA, M.S.R., MEDEIROS, A.C.D. Administração cutânea de fármacos: desafios e estratégias para o desenvolvimento de formulações transdérmicas. **Revista de Ciências Farmacêuticas Básica e Aplicada**. v. 31, n. 3, p. 125-131, 2010, (2010a).

DASH, M.; CHIELLINI, F.; OTTENBRITE, R.M.; CHIELLINI, E. Chitosan – a versatile semi-synthetic polymer in biomedical applications. v.36, n.8, p. 981-1014, 2011.

DE MELO, N. F. S.; GRILLO, R.; ROSA, A. H.; FRACETO, L. F.; DIAS-FILHO, N. L.; DE PAULA, E.; ARAÚJO, D. R. Desenvolvimento e caracterização de nanocápsulas de poli (L-lactídeo) contendo benzocaína, vol. 33, n.1, **Química Nova**, p. 33-65, 2010.

DRAYE, J. P.; DELAEY, B.; VAN DEN VOORDE, A.; VAN DEN BULCKE, A.; DE REU, B.; SCHACHT, E. *In vitro* and *in vivo* biocompatibility of dextran dialdehyde cross-linked gelatin hydrogel films. **Biomaterials**, v. 19, p. 1677-1687, 1998.

DUTTA, P. K., TRIPATHI, S., MEHROTRA, G. K., DUTTA, **Journal Food Chemistry**, v. 114, p. 1173, 2009.

EDWARDS, J. W. C.; SEDGEWICK, A. D.; WILLOUGHBY, D. A. The formation of a structure with features of synovial lining by subcutaneous injection of air: an *in vivo* tissue cultures system. **Journal of Pathology**, v. 134, p. 147-153, 1981.

FEGHALI, C. A.; WRIGHT, T. M. Cytokines in acute and chronic inflammation. **Frontiers in Bioscience**.v. 2, p. 12-26. 1997.

FIORUCCI, S. et al. Dual inhibitors of cyclooxygenase and 5-lipoxygenase. A new avenue in anti-inflammatory therapy. **Biochemical Pharmacology**.v. 62, p. 1433, 2001.

FRANK, S.; KÄMPFER, H. Excisional Wound Healing. In: Dipietro, L. A. e Burns, A. L. (Ed.). **Wound Healing: Methods and Protocols**. Totowa, NJ: Humana Press, p.3-15, 2003.

GILHAR, A.; GROSSMAN, N.; KAHANOVICZ, S.; REUVENI, H.; COHEN, S.; EITAN, A. Antiproliferative effect of Pentoxifylline on Psoriatic and normal epidermis. In vitro and in vivo studies. **Acta Dermato-Venereologica**, v.76, p. 437-441, 1996.

GILL, H. S.; ANDREWS, S. N.; SAKTHIVEL, S. K.; FEDANOV, A.; WILLIAMS, I. R.; GARBER, D. A.; PRIDDY, F. H.; YELLIN, S.; FEINBERG, M. B.; STAPRANS, S. I.; PRAUSNITZ, M. R. Selective removal of stratum corneum by microdermabrasion to increase skin permeability. **European Journal of Pharmaceutical Sciences**,v. 38, n.2, p. 95-103, 2009.

GORDON, L. F. Fundamental Concepts of in vitro Release. FDA Workshop on Assessment of value applications of in vitro release testing of topical dermatological drug, sept 1997.

GRUBER, S., BOZSAKY, E., ROITINGER, E., SCHWARZ, K., SCHMIDT, M., DORR, W. Early inflammatory changes in radiation-induced oral mucositis : Effect of pentoxifylline in a mouse model. **Strahlentherapie Onkologie**, v. 193, n. 6, p. 499-507, 2017.

GUNAWAN, I.; ACHMAD, S.; SOEHARYONO, M.; TJIANG, L.; IIS, W.; LISA, A. Pentoxifylline. In: Harry GB. **Analytical Profiles Drug Substances Excipients**, v.25, p. 295-339, 1998.

GUPTA, M.; POONAWALA, T.; FAROOQUI, M.; ERICSON, M. E.; GUPTA, K. Topical fentanyl stimulates healing of ischemic wounds in diabetic rats. **Journal Diabetes**, v. 7, n. 4, p. 573-583, 2015.

HASSAN, I.; DORJAY, K.; ANWAR, P. Pentoxifylline and its applications in dermatology. **Indian Dermatology Online Journal**, v. 5, n.4, p. 510-516, 2014.

HIGUCHI, T.J. Physical chemical analysis of percutaneous absorption process from creams and ointments. **Journal of the Society of Cosmetic Chemists**. v.11, p. 85-97, 1960.

HONDA, A.M.; MAGALHÃES, J.F. Validação do método espectrofotométrico da pentoxifilina em comprimidos revestidos de 400mg. **Revista Brasileira de Ciências Farmacêuticas**, v. 37, n.2, 2001.

HU, S., BI, S., YAN, D., ZHOU, Z., SUN, G., CHENG, X., CHEN, X. Preparation of composite hydroxybutyl chitosan sponge and its role in promoting wound healing. **Carbohydrate Polymers**, 2018.

IKINCI, G. et al. Effect of chitosan on a periodontal pathogen *Porphyromonas gingivalis*. **International Journal of Pharmaceutics**, v. 253, p. 121-127, 2002.

IMMONEN, J. A.; ZAGON, I. S.; MCLAUGHLIN, P. J. Topical Naltrexone as Treatment for Type 2 Diabetic Cutaneous Wounds. **Advances in Wound Care New Rochelle**, v. 3, n. 6, p. 419-427, 2014.

JAYAKUMAR, R., PRABAHARAN, M., KUMAR SUDHEESH, P. T., NAIR, S. V., TAMURA, H. Biomaterials based on chitin and chitosan in wound dressing applications. **Biotechnology Advances**. v. 29, n. 3, p. 322-337, 2011.

JORGE, L. L.; FERES, C. C.; TELES, V. E. P. Topical preparations for pain relief: efficacy and patient adherence. **Journal of Pain Research**, v. 4, p. 11-24, 2011.

KAMOUN, E. A., KENAWY, E. S., CHEN, X. A review on polymeric hydrogel membranes for wound dressing applications: PVA-based hydrogel dressings. **Journal of Advanced Research**. v. 8, n.3, p. 217-233, 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.

KAYA, M.; RAVIKUMAR, P.; ILK, S.; MUJTABA, M.; AKYUZ, L.; LABID, J.; SALABERRIA, A.M.; CAKMAK, Y.S.; ERKFUL, S.K. Production and characterization of chitosan based edible films from *Berberis crataegina*'s fruit extract and seed oil. **Innovative Food Science & Emerging Technologies**. v. 45, p. 287-297, 2018.

KILICARSLAN, M., ILHAN, M., INAL, O., ORHAN, K. Preparation and evaluation of clindamycin phosphate loaded chitosan/alginate polyelectrolyte complex film as mucoadhesive drug delivery system for periodontal therapy. **European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics**, 2018.

KOH, T.J.; DIPIETRO, L.A. Inflammation and wound healing: the role of macrophage. **Expert Reviews in Molecular Medicine**, v.11, n. 13, p. 1-12, 2011.

KOKABI, M., SIROUSAZAR, M., HASSAN, Z.M. PVA–clay nanocomposite hydrogels for wound dressing, **European Polymer Journal**, v. 43, p. 773-781, 2007.

KOLUMAM, G.; WU, X.; LEE, W. P.; HACKNEY, J. A.; ZAVALA-SOLORIO, J.; GANDHAM, V.; DANILENKO, D. M.; ARORA, P.; WANG, X.; OUYANG, W. IL-22R Ligands IL-20, IL-22, and IL-24 Promote Wound Healing in Diabetic db/db Mice. **Plos One**, v. 12, n. 1, p. e0170639, 2017.

LADEIRA, P. S. R., ISAAC, C., PAGGIARO, A. O., HOSAKA, E. M., FERREIRA, M. C. Úlceras nos membros inferiores de pacientes diabéticos: mecanismos moleculares e celulares. **Revista Médica**, São Paulo, v. 90, n. 3, p. 122-127, 2011.

LAIRD, B.J.; MCMILLAN, D.C.; FAYERS, P. ; FEARON, K. ; KAASA, S. ; FALLON, M.T. ; KLEPSTAD, P. The systematic inflammatory response and its relationship to pain and other symptoms in advanced cancer. **The Oncologist Journal**, v.18, n. 9, p. 1050-1055, 2013.

LARSEN, G. L.; HOLT, P. G. The concept of airway inflammation. **American Journal of Respiratory and Critical Care Medicine**.v.162, p. S2-S6. 2000.
LEE, P.-Y.; LI, Z.; HUANG, L. Thermosensitive Hydrogel as a Tgf- β 1 Gene Delivery Vehicle Enhances Diabetic Wound Healing. **Pharmaceutical Research**, v. 20, n. 12, p. 1995-2000, 2003.

LEUNER, C., DRESSMAN, J., Improving drug solubility for oral delivery using solid dispersions. **European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics**, v. 50, n.1, p. 47-60, 2000.

LOWE, A. S.; WALKER, M. D.; COWAN, R.; BAXTER, G. D. Therapeutic ultrasound and wound closure: lack of healing effect on x-ray irradiated wounds in murine skin. **Archives of Physical Medicine and Rehabilitation**, v. 82, n. 11, p. 1507-1511, 2001.

MACHADO, P. R.; LESSA, H.; LESSA, M.; GUIMARÃES, L. H.; BANG, H.; HO, J. L. Oral pentoxifylline combined with pentavalent antimony: a randomized trial for mucosal leishmaniasis. **Clinical Infectious Diseases**, v. 44, p. 788-793, 2007.

MANDELBAUM, S. H., SANTIS, É. P., MANDELBAUM, M. H. S. Cicatrization: current concepts and auxiliary resources – Part II. **Anais Brasileiro de Dermatologia**, v. 78, n. 5, p. 525-542, 2003.

MARCOLONGO, R; STORPIRTIS, S. Dissolução de Medicamentos fundamentos, aplicações, aspectos regulatórios e perspectivas na área farmacêutica. Tese de Mestrado da FCF – USP, 2003.

MARTIN, P., LEIBOVICH, S. J. Inflammatory cells during wound repair: the good, the bad and the ugly. **Trends in Cell Biology**. v. 15, p. 599-607, 2005.

MATSUMOTO, T.; ZOGRAFI, G. Physical properties of solid molecular dispersions of indomethacin with poly-(vinylpyrrolidone) and

poly(vinylpyrrolidone-co-vinyl lactate) in relation to indomethacin crystallization. **Pharmaceutical Research**, v. 16, n.11, p.1722-1728, 1999.

MENDONÇA, R. J., COUTINHO-NETTO, J. Aspectos celulares da cicatrização. **Anais Brasileiro de Dermatologia**. v. 84, n. 3, p. 257-262, 2009.

MENGATTO, L.N.; HELBLING, I.M.; LUNA, J.A. Avanços recentes em filmes de quitosana para liberação controlada de drogas. **Recent Patent on Drug Delivery & Formulation**, v. 6, n.2, p. 156-170, 2012.

MESSA, L. L., FROES, J. D., SOUZA, C. F., FAEZ, R. HÍBRIDOS DE QUITOSANA-ARGILA PARA ENCAPSULAMENTO E LIBERAÇÃO SUSTENTADA DO FERTILIZANTE NITRATO DE POTÁSSIO. *Química Nova*, v. 39, p. 1215-1220, 2016.

MICHAELS, A. S., CHANDRASEKARAN, S. K., SHAW, J. E. Drug permeation through human skin: theory and in vitro experimental measurement. **AIChE Journal**, 21 (5) (1975), pp. 985-996.

MULYE, N. V.; TURCO, S. J. A simple model based on first order kinetics to explain release of highly water soluble drugs from porous dicalcium phosphate dihydrate matrices. **Drug Development and Industrial Pharmacy**, v. 21, n. 8, p. 943-953, 1995.

NATHAN, C. Points of control in inflammation. **Nature**, v. 420, p. 19-26, 2002. National Center for Biotechnology Information. **PubChem Compound Database**; CID=4740. Disponível em: <http://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/4740>, acesso em: 09 de janeiro de 2018.

NIEDER, C.; ZIMMERMANN, F. B.; ADAM, M.; MOLLS, M. The role of pentoxifylline as a modifier of radiation therapy. **Cancer Treatment Reviews**, v. 31, n.6, p. 448-455, 2005.

NOYES, A. A.; WITHNEY, W. R. The rate of solution of solid substances in their own solutions. **Journal of the American Chemical Society**, v. 19, p. 930-934, 1987.

OKIN, D.; MEDZHITOV, R. Evolution of inflammatory diseases. **Current Biology Journal**, v. 11, n. 22, p. 733-740, 2012.

OLIVEIRA, A. H., MOURA, E. A., PINTO, M. F., PROCÓPIO, J. V. V., SOUZA, V. G., SOUZA, F. S., MACÊDO, R. O. Thermal characterization of raw material pentoxifylline using thermoanalytical techniques and Pyr-GC/MS. **Journal of Thermal Analysis Calorimetry**. v. 106, p. 763-766, 2011.

OSHIRO JUNIOR, J.A.; SHIOTA, L.M.; CHIAVACCI, L.A. Desenvolvimento de formadores de filmes poliméricos orgânico-inorgânico para liberação controlada de fármacos e tratamento de feridas. **Revista Matéria**, v. 19, n.1, p. 24-32, 2014.

PARENTE, L. Pros and cons of selective inhibition of cyclooxygenase-2 versus dual lipooxygenase/cyclooxygenase inhibition: is two better than one. **The Journal of Rheumatology**.v. 28, p. 2375-2382, 2000.

PATEL, S., SRIVASTAVA, S., SINGH, M. R., SINGH, D. Preparation and optimization of chitosan-gelatin films for sustained delivery of lupeol for wound healing. **International Journal of Biological Macromolecules**, 2018.

PATEL, V., MCGURK, M. Use of pentoxifylline and tocopherol in radiation-induced fibrosis and fibroatrophy. **British Journal of Oral and Maxillofacial Surgery**, 2017.

PAVIA, D. L., LAMPMAN, G. M., KRIZ, G. S., VYVYAN, J. R. Introdução a **Espectroscopia**. [Tradução], 5º ed, 2016.

PAVINATTO, F. J. **Interação entre quitosana e modelos de membrana celular: filmes de Langmuir e Langmuir – Blodgett (LB)**. Dissertação de mestrado, Universidade de São Paulo, São Carlos, 2010.

PIOTROWSKA, U., OLEZKA, E., ZGADZAJ, A., BAUER, M., SOBCZAK, M. A Novel Delivery System for the Controlled Release of Antimicrobial Peptides: Citropin 1.1 and Temporin A. **Polymers**, 2018.

PIRES, A. L. R., MOTTA, L. A., DIAS, A. M. A., SOUSA, H. C., MORAES, A. M., BRAGA, M. E. M. Towards wound dressings with improved properties: Effects of poly (dimethylsiloxane) on chitosan-alginate films loaded with thymol and betacarotene. **Materials Science and Engineering C**, 2018.

PRAÇA, F. S. G. **Liberção e permeação in vitro de produtos transdérmicos: um estudo metodológico de aparatos e de condições experimentais**. 2010. Tese de Doutorado em Ciências Farmacêuticas. Universidade de São Paulo, São Paulo.

REDESCHI, M. C. M. **Preparação e caracterização de filmes a base de xiloglucana extraída de sementes de hymenaeacourbaril (jatobá)**. Tese de Mestrado, Universidade Estadual Paulista, Araraquara, São Paulo, 2006.

RICCIOTTI, E.; FITZGERALD, G. A. Prostaglandins and inflammation. **Arteriosclerosis Thrombosis and Vascular Biology**, v. 31, n.5, p. 986-1000, 2012.

ROTE, N. S. Inflammation. In: McCANCE, K.L.; HUETHER, S.E. Pathophysiology: the biologic basis for disease in adults and children. 3th ed. St. Louis: Mosby, 1998. cap. 7, p. 205-236.

SADEGHIAN, G.; NILFOROUSHZADEH, M.A. Effect of combination therapy with systemic glucantime and pentoxifylline in the treatment of cutaneous leishmaniasis. **International Journal of Dermatology**, v.45, p. 819-821, 2006.

SALARI, M., KHIABANI, M. S., MOKARRAM, R. R., GHANBARZADEH, B., KAFIL, H. S. Development and evaluation of chitosan based active nanocomposite films containing bacterial cellulose nanocrystals and silver nanoparticles. *Food Hydrocolloids*, v. 84, p. 414-423, 2018.

SAMLASKA, C.P.; WINFIELD, A. Pentoxifylline. **Journal of American Academy of Dermatology**, v.30, p. 603-621, 1994.

SANJITA, D.; DINAKAR, S.; SAUMYA, P. B. Anti-inflammatory and antinociceptive activity of arbortristoside-A. **Journal Ethnopharmacology**. v. 116, p. 198–203. 2008.

SANTANA, C. C., NÓBREGA NETO, P. I., SÁ, M. J. C., OLIVEIRA, L. M., FOOK, M. V. L., AZEVEDO, A. S., SOUSA, O. B. Use of the film of chitosan in the repair of tendons in rabbits. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v. 66, n. 4, 2014.

SANTOS, J. E., SOARES, J. P., DOCKAL, E. R., CAMPANA-FILHO, S. P., CAVALHEIRO, E. T. G. Characterization of commercial chitosan from different suppliers. **Polímeros**, v. 13, n. 4, p. 242-249, 2003.

SCHAEFER, H., REDELMEIER, T. E. **Skin barrier: principles of percutaneous absorption**. v. 19, p. 1-6, 1997.

SCHOLICH, K.; GEISLINGER, G. Is mPEGS-1 a promising target for pain therapy. **Trends in Pharmacological Sciences**. v. 27, n.8, p. 399-401. 2006.

SCHULTZ, M. RUDOLF VIRCHOW. *Emerging Infectious Diseases*. v. 14, n.9, p. 1480-1481, 2008.

SCHWARZ, A.; KRONE, C.; TRAUTINGER, F.; ARAGANE, Y.; NEUNER, P.; LUGER, T.A.; SCHWARZ, T. Pentoxifylline suppress irritant and contact hypersensitivity reactions. **Journal of Investigative Dermatology**, v.101, p. 549-552, 1993.

SERHAN, C. N. A search for endogenous mechanisms of anti-inflammation uncovers novel chemical mediators: missing links to resolution. **Histochemistry and Cell Biology**, v. 122, p. 305-321, 2004.

SERHAN, C. N.; CHIANG, N. Novel endogenous small molecules as the checkpoint controllers in inflammation and resolution: entrée for resoleomics. **Rheumatic Disease Clinics of North America**. v. 30, p. 69-95. 2004.

SHARMA, N., AGARWAL, G., RANA, A. A review: transdermal drug delivery system a tool for novel drug delivery system. **International Journal of Drug Development & Research**. v. 3 (2011), pp. 70-84.

SHERWOOD, E. R.; TOLIVER-KINSKY, T. Mechanisms of the inflammatory response. **Best Practice & Research Clinical Anaesthesiology**, v. 18, n. 3, p. 385-405, Sep 2004.

SHIBATA, H.; SHIOYA, N.; KUROYANGI, Y. Development of new wound dressing composed of spongy collagen sheet containing dibutylrly cyclic AMP. **Journal of Biomaterials Science, Polymer Edition**, v. 8, n.8, p. 601-621, 1997.

SHIOW-FERN, N., TAN, S. Development and in vitro assessment of alginate bilayer films containing the olive compound hydroxytyrosol as an alternative for topical chemotherapy. **International Journal of Pharmaceutics**. v. 495, n. 2, p. 798-806, 2015.

SILVA, K. E. R. Modelos de Avaliação da Estabilidade de Fármacos e Medicamentos para a Indústria Farmacêutica. **Revista de Ciências Farmacêuticas Básica e Aplicada**, v. 30, n. 2, p.129-135, 2009.

SILVA, S. S., LUNA, S. M., GOMES, M. E., BENESCH, J., PASHKULEVA, I., MANO, J. F., REIS, R. L. "Plasma surface modification of chitosan membranes: characterization and preliminary cell response studies". **Macromolecular Bioscience**, v. 8, p. 568-576, 2008.

SIZÍLIO, R. H., GALVÃO, J. G., TRINDADE, G. G. G., PINA, L. T. S., ANDRADE, P. L. N., GONÇALVES, J. K. M. C., LIRA, A. A. M., CHAUD, M. V., ALVES, T. F. R., ARGUELHO, M. L. P. M., NUNES, R. S. Chitosan/pvp-based mucoadhesive membranes as a promising delivery system of betamethasone-17-valerate for aphthous stomatitis. **Carbohydrate Polymers**, v. 190, p. 339-345, 2018.

SWART, H.; BREYTENBACH, J. C.; HADGRAFT, J.; PLESSIS, J. Synthesis and transdermal penetration of NSAID glycoside esters. **International Journal of Pharmaceutics**, v. 301, p. 71-9, 2005.

TAHARA, K.; YAMAMOTO, K.; NISHIHATA, T. Application of model-independent and model analysis for the investigation of effect of drug solubility on its release rate from hydroxypropyl methylcellulose sustained release tablets. **International Journal of Pharmaceutics**, v. 133, n. 1, p. 17-27, 1996.

TAMER, T. M., VALACHOVÁ, K., HASSAN, M. A., OMER, A. M., EL-SHAFFEY, M., ELDIN, M. S. M., SOLTÉS, L. Chitosan/hyaluronan/edaravone membranes for anti-inflammatory wound dressing: In vitro and in vivo evaluation studies. **Materials Science and Engineering C**, 2018.

TANG, J.; LIU, H.; GAO, C.; MU, L.; YANG, S.; RONG, M.; ZHANG, Z.; LIU, J.; DING, Q.; LAI, R. A small peptide with potential ability to promote wound healing. **Plos One**, v. 9, n. 3, p. e92082, 2014.

TEKSIN, Z.S.; AGABEYOGLU, I.; YAMAC, K. Bioavailability of Pentoxifylline-Chitosan Oral Matrix Tablet in Healthy Subjects. **Journal of Bioequivalence & Bioavailability**, v.1, n.4, p. 115-120, 2009.

- THASSU, D., DELEERS, M., PATHAK, Y. **Nanoparticulate drug delivery systems**: InformaHealthcare, v. 166, 2007.
- TOSCANO, C., CAMPOS, R., BICA, A., FARINHA, A. R., Desenvolvimento e validação de um sistema de avaliação da liberação in vitro do peróxido de benzoíla veiculado em géis. **Revista Brasileira de Ciências Farmacêuticas**, v. 37, n. 3, 2001.
- TRACEY, K. J. The inflammatory reflex. **Nature**, v.420, n.6917, p.853-859, Dec 2002.
- ULUBAYRAM, K.; CAKAR, A. N.; KORKUSUZ, P.; ERTAN, C.; HASIRCI, N. EGF containing gelatin-based wound dressings. **Biomaterials**, v. 22, p. 1345-1356, 2001.
- UNITED STATES PHARMACOPOEIA. Maryland: The United States of America. 2011.
- VANE, J. R.; BAKHLE, Y. S.; BOTTING, R. M. Cyclooxygenases 1 and 2. **Annual Review of Pharmacology and Toxicology**. v. 38, p. 97–120. 1998.
- VARELAS, C. G., DIXON, D. G., STEINER, C. A. Zero-order release from biphasic polymer hydrogels. **Journal Controlled Release**, Amsterdam, v. 34, p. 185-192, 1995.
- VIEIRA, D.B.; GAMARRA, L.F. Avanços na utilização de nanocarreadores no tratamento e diagnóstico do câncer. **Einstein**, v. 14, n.1, p. 99-103, 2016.
- WAGNER, J. G. Biopharmaceutics and Relevant Pharmacokinetics. Hamilton: Drug Intelligence Publications, p. 375, 1971.
- WANG, X.; GE, J.; TREDGET, E. E.; WU, Y. The mouse excisional wound splinting model, including applications for stem cell transplantation. **Nature Protocols**, v. 8, n. 2, p. 302-309, 2013.
- WANG, X.; SPENCER, H. G. Formation and characterization of chitosan formed in-place ultrafiltration membranes. **Journal of Applied Polymers Science**, v. 67, n. 3, p. 513-519, 1998.
- WARD, A., CLISSOLD, S. P. Pentoxifilina. Umarevisão de sua farmacodinâmica e propriedades farmacocinéticas, e sua eficácia terapêutica. **Drugs**, v. 34, p. 50-97, 1987.
- WAYS, T. M. M., LAU, W. M., KHUTORYANSKIY, V. V. Chitosan and Its Derivatives for Application in Mucoadhesive Drug Delivery Systems. **Polymers**, 2018.

WEINHEIMER-HAUS, E. M.; MIRZA, R. E.; KOH, T. J. Nod-like receptor protein-3 inflammasome plays an important role during early stages of wound healing. **Pos One**, v. 10, n. 3, p. e0119106, 2015.

WELSH, O., GÓMEZ, M., MANCIAS, C., IBARRA-LEAL, S., MILLIKAN, L.E. A new therapeutic approach to type II leprosy reaction, **International Journal of Dermatology**.v. 38, p. 931–933, 1999.

XIE, Y., LIAO, X., ZHANG, J., YANG, F., FAN, Z. Novel chitosan hydrogels reinforced by silver nanoparticles with ultrahigh mechanical and high antibacterial properties for accelerating wound healing. **International Journal of Biological Macromolecules**, 2018.

YASSUE-CORDEIRO, P. H., ZANDONAI, C. H., SILVA, C. F., FERNANDES-MACHADO, N. R. C. Desenvolvimento e caracterização de filmes compósitos de quitosana e zeólitas com prata. **Polímeros**, v. 25 (5), p. 492-502, 2015.

YEWALE, C., BARADIA, D., VHORA, I., MISRA, A. Proteins: emerging carrier for delivery of cancer therapeutics. **Expert Opinion on Drug Delivery**, v. 10, p. 1429–1448, 2013.

YI, T., WAN, J., XU, H., YANG, X. A new solid self-microemulsifying formulation prepared by spray-drying to improve the oral bioavailability of poorly water soluble drugs. **European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics**, v. 70, p. 439-444, 2008.

ZHANG, J.M.; AN, J. Cytokines, inflammation and pain. **International Anesthesiology Clinics Journal**, v.45, n.2, p.27-37, 2007.

ZHANG, M.; XU, Y.J.; MENGI, S.A.; ARNEJA, A.S.; DHALLA, N.S. Therapeutic potentials of pentoxifylline for treatment of cardiovascular diseases. **Experimental and Clinical Cardiology**, v.9, n.2, p. 103-111, 2004.

ZHANG, X.; CAO, J.; ZHONG, L. Hydroxytyrosol inhibits pro-inflammatory cytokines, iNOS, and COX-2 expression in human monocytic cells *Naunyn-Schmied. Naunyn-Schmiedeberg's Archives of Pharmacology*. v. 379, p. 581–586. 2009.

Anexo

ANEXO – Aprovação do Comitê de Ética.



PARECER

NÚMERO DO PROJETO/ PROTOCOLO : 0076022022018

CIAEP/CONCEA Nº: 01.001.2012

DATA DO PARECER: 22/02/2018

1. Pesquisador Responsável: João Walter de Souza da Silveira

Título do Projeto: AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE ANTI-INFLAMATÓRIA/CICATRIZANTE DA APLICAÇÃO TÓPICA DE FILMES POLIMÉRICOS DE QUITOSANA CONTENDO PENTOXIFILINA OU DE NANOEMULSÕES CONTENDO O ÓLEO ESSENCIAL DE SCHINUS TEREBINTHIFOLIUS RADDI

2. Considerações: Este projeto envolve a produção, manutenção e/ou utilização de animais pertencentes ao filo Chordata, subfilo vertebrata (exceto o homem), para fins de pesquisa científica (ou ensino) – encontra-se de acordo com os preceitos da lei nº 11.794 de 08 de outubro de 2008, do decreto nº 6.899, de 15 de julho de 2009, e com as normas editadas pelo Conselho Nacional de Controle de Experimentação Animal – CONCEA, e foi APROVADO pela Comissão de Ética no Uso de Animais (CEUA) do CESED, em reunião de 22 / 02 / 2018.

Vigência do Projeto	2018
Espécie / linhagem	Camundongos Swiss (Mus musculus)
Nº de animais	56
Peso / idade	25 e 35g /
Sexo	Machos e Fêmeas
Origem	BIOTÉRIO CESED

3. Parecer Final: APROVADO


Thárcia Kiara B. de Oliveira
Coordenadora do CEUA-CESED

