



UNIVERSIDADE DE SOROCABA
PRÓ-REITORIA ACADÊMICA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS FARMACÊUTICAS

Sebastião de Lima Coelho

**DESENVOLVIMENTO E CARACTERIZAÇÃO DE HIDROGEL PARA
LIBERAÇÃO DE NITROFURAZONA**

Sorocaba/SP
2012

Sebastião de Lima Coelho

**DESENVOLVIMENTO E CARACTERIZAÇÃO DE HIDROGEL PARA
LIBERAÇÃO DE NITROFURAZONA**

Dissertação apresentada à Banca Examinadora do Programa de Pós-Graduação em Ciências Farmacêuticas da Universidade de Sorocaba, como exigência parcial para obtenção do título de Mestre em Ciências Farmacêuticas.

Orientadora: Profa. Dra. Marta Maria Duarte Carvalho Vila

**Sorocaba/SP
2012**

Coelho, Sebastião Lima

C62d Desenvolvimento e caracterização de hidrogel para liberação de nitrofurazona / Sebastião Lima Coelho. -- Sorocaba, SP, 2012.

84 f. : il.

Orientadora: Profa. Dra. Marta Maria Duarte Carvalho Vila.

Dissertação (Mestrado em Ciências Farmacêuticas) -
Universidade de Sorocaba, Sorocaba, SP, 2012.

Bibliografia: p. 72-84.

Sebastião de Lima Coelho

**DESENVOLVIMENTO E CARACTERIZAÇÃO DE HIDROGEL PARA
LIBERAÇÃO DE NITROFURAZONA**

Dissertação aprovada como requisito parcial para obtenção do grau de Mestre no Programa de Pós-Graduação em Ciências Farmacêuticas da Universidade de Sorocaba.

Aprovado em: 27 de agosto de 2012

BANCA EXAMINADORA:

Ass.: _____

Pres.: Profa. Dra. Marta Maria Duarte Carvalho Vila
Universidade de Sorocaba

Ass.: _____

1º Exam.: Prof. Dr. Marco Vinicius Chaud
Universidade de Sorocaba

Ass.: _____

2º Exam.: Prof. Dr. Robson Vicente Machado de Oliveira
Universidade de Sorocaba

Dedicatória

Dedico este trabalho, primeiramente, ao Senhor de todo o saber, Jesus Cristo, Mestre dos Mestres. Seu amor incondicional nos possibilitou a todos a maravilha da vida, na qual devemos fazer o melhor por nossos irmãos como forma de honrar o Seu amor, como Ele nos ensinou. Obrigado Deus!

Compartilho a graça desta conquista também com as pessoas mais importantes da minha vida: meus pais, Ideval de Lima Coelho e Denir Lacerda de Lima, Dirce Luzia de Lima (in memoriam), que um dia acreditaram que eu poderia andar sozinho e, hoje, gostaria que percebessem que posso ir mais longe... Sintam-se honrados, pois esta vitória é de vocês também!

À minha esposa, Bruna Belarmino de Oliveira, que ao seu jeito, soube se manter como minha fiel auxiliadora, entendendo minha necessária ausência, meus horários inadequados, minhas viagens, as privações, a impaciência muitas vezes injustas: te amo hoje muito mais que ontem... e se vencemos, foi porque o fizemos juntos.

Por fim, devoto todo meu esforço e vitória às minhas filhas: Mylla, Renata e Isabella: vocês, mesmo sem quererem, são o estímulo pra que eu busque mais a cada dia. Vocês dão sentido a tudo. Vocês são o que eu preciso para manter a fé de que, abaixo de Deus, os Homens podem ser melhores e o mundo precisa mais a cada dia de pessoas como vocês: simples, amorosas, iluminadas pelo Espírito Santo.

Amo vocês!

Agradecimentos

À prof^a. Dra. Marta Maria Duarte Carvalho Vila por acreditar em mim desde a entrevista para ingresso no Programa de Pós-graduação em Ciências Farmacêuticas da Universidade de Sorocaba (UNISO). Sua compreensão, orientação e empenho tornaram possível a conclusão deste trabalho.

Ao prof. Dr. Marco Vinícius Chaud pela ajuda constante, desde a escolha do projeto até o aprimoramento do trabalho final.

Ao Prof. Dr. Robson Vicente Machado de Oliveira pela correção e sugestões no texto da dissertação.

Aos demais professores da Pós-Graduação em Ciências Farmacêuticas da UNISO, em especial, à Profa. Dra Marli Gerenutti, Prof. Dr Newton Andréo Filho e Prof. Dr Fernando de Sá Del Fiol, pelas valiosas aulas ministradas e por toda a atenção dispensada. Vocês, bem como os professores supracitados, foram e são, para mim, exemplo do que é ser um professor.

Aos colegas de pós-graduação, de sala de aula e de laboratório, pela amizade, sonhos e momentos compartilhados.

Aos funcionários e estagiários do laboratório de Mestrado da UNISO, em especial à Valéria Orsi, pela colaboração em todas as etapas laboratoriais da pesquisa.

Ao UBM, Centro Universitário de Barra Mansa, pelo auxílio financeiro e estímulo na busca desta vitória.

À Profa Msc. Nylza Maria Tavares Gonçalves, minha coordenadora e amiga de tantos anos, pelo estímulo e apoio constante.

À coordenadora dos laboratórios do UBM, Profa Sylvia Eileen C. Cabezas e supervisoras Luiza Helena R. de Almeida, Marta Leonia G. Valiante, Ornélia de Paula P. R. Martins e às colaboradoras Raquel, Tânia, Taís, Lucimauro e Prof. Evandro Toledo G. Stutz, pelo auxílio com os trabalhos práticos.

Ao Prof. Dr. Matthieu Tubino, do Instituto de Química da Universidade Estadual de Campinas(UNICAMP) e Profa. Dra Maria Palmira Daflon Gremião, da Faculdade de Ciências Farmacêuticas da Universidade Estadual Júlio de Mesquita Filho, pelo valioso auxílio com as análises térmicas.

À Henrifarma Produtos Químicos e Farmacêuticos pela doação da Nitrofurazona.

- muito obrigado!

Que Deus nos abençoe a todos.

EPÍGRAFE

"...o meu povo está sendo destruído porque lhe falta conhecimento..."
Oseias, 4:6

*"...e seja sobre nós a graça do Senhor, nosso Deus; e confirma sobre nós a obra das
nossas mãos; sim, confirma a obra das nossas mãos."*
Salmos, 90:17

RESUMO

Sistemas de liberação modificada de fármacos têm sido desenvolvidos nos últimos anos com o objetivo de diminuir a frequência de administração, aumentar a tolerância e adesão ao tratamento por parte do paciente. Entre as diversas formas farmacêuticas desenvolvidas, filmes de géis e hidrogéis podem ser considerados sistemas de liberação controlada de fármacos, dependendo do tipo de formulação e aplicação em que são utilizados. O objetivo deste trabalho foi desenvolver e caracterizar um hidrogel de poli álcool vinílico (PVA) reticulado com glutaraldeído e incorporado com nitrofurazona (NTZ), para aplicação tópica. Para verificar a capacidade de liberação do ativo foram determinados o perfil de intumescimento, a liberação de NTZ *in vitro* por espectrofotometria no UV-Visível e o teste de sensibilidade antimicrobiana por exposição do hidrogel a cepas padrão ATCC de *S. aureus*, *E. coli* e *P. aeruginosa*. O hidrogel foi caracterizado físico-quimicamente por microscopia eletrônica de varredura, espectroscopia no infravermelho, teor de umidade, força bioadesiva e análises térmicas (TGA e DSC). O teste de intumescimento mostrou aumento da massa de $100 \pm 5\%$ até $350 \pm 11\%$ sem perda de sua forma por até 14 horas de ensaio. A NTZ incorporada apresentou atividade bactericida esperada em relação ao seu perfil de sensibilidade, tendo sido liberada durante a incubação em PBS, pH= $6,00 \pm 0,05$, em concentração superior à CIM (concentração inibitória mínima) para *S. aureus*. A microscopia eletrônica indicou morfologia homogênea e o espectro de infravermelho mostrou que a nitrofurazona não se ligou fortemente ao polímero reticulado sendo, provavelmente, apenas carregada por este sistema. As análises térmicas indicaram que houve perda da estabilidade térmica pela incorporação de NTZ ao hidrogel e a avaliação da força bioadesiva mostrou-se adequada ao uso pretendido. O hidrogel apresentou características promissoras para o emprego em lesões de pele particularmente para indivíduos com lesões de pele, particularmente para indivíduos com lesões de difícil tratamento como ferida de membros inferiores em portadores de diabetes melitus.

Palavras-chave: Nitrofurazona, Hidrogel, Sistemas de Liberação de Fármacos.

ABTRACT

Modified release systems of drug have been developed in recent years with the aim of reducing the frequency of administration, increase tolerance and adherence to treatment by the patient. Among the various pharmaceutical forms developed films of gels and hydrogels can be considered controlled release systems for drugs, depending on the type of formulation and application they are used. The objective of this study was to develop and characterize a hydrogel of poly (vinyl alcohol) (PVA) crosslinked by chemical method with glutaraldehyde and embebed with nitrofurazona(NTZ) for topical application. To verify the ability to release the active component were determined the profile os swelling, the release of NTZ in vitro by UV-Visible spectroscopy and antimicrobial test by exposing the hydrogel to ATCC strains of *S. aureus*, *E. coli*, *P. aeruginosa*. The hydrogel was characterized physico-chemically by scanning electron microscopy, infrared spectroscopy, humidity values content and thermal analysis(TGA and DSC). The mechanical evaluation was performed by force biadhesive. The test of swelling showed an increase of the mass $100\% \pm 5$ to 350% without losing its shape up to 14 hours of testing. The built-NTZ showed bactericidal activity against the expected profile of sensitivity, being released in PBS, $\text{pH}=6.00 \pm 0.05$ at concentrations above the MIC(minimal inhibitory incubation) for *S. aureus*. Electron microscopy showed homogeneous morphology. The infrared spectrum showed that NTZ did not bind strongly to the crosslinked polymer and is probably only carried by this systems. However, the thermal analysis indicated loss of thermal stability for the incorporation of the hydrogel NTZ. The bioadhesiveness was adequate for their intended use. The hydrogel results presented promising characteristics for use in skin lesions particularly for individuals with lesions difficult to treat as wounds of the limbs of patients with diabetes melitus.

Key words: Nitrofurazone, Hydrogel, Drug Delivery Systems.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1	Representação gráfica das publicações sobre o desenvolvimento de polímeros de liberação sustentada.....	17
Figura 2	Esquema da formação de hidrogel ionotrópico e poliiônico.....	25
Figura 3	Esquema da formação de hidrogel por modificação química e física de polímeros hidrofóbicos.....	25
Figura 4	Esquema da formação de hidrogel com polímeros hidrossolúveis.....	26
Figura 5	Esquema de formação de hidrogéis por reações de condensação de reagentes multifuncionais.....	26
Figura 6	Estrutura do PVA.....	29
Figura 7	Reticulação química (A) e física (B) de hidrogéis poliméricos.....	33
Figura 8	Representação da estrutura do glutaraldeído.....	34
Figura 9	Reticulação do PVA com em meio ácido.....	35
Figura 10	Estrutura: química da NTZ.....	38
Figura 11	Formas tautoméricas da NTZ.....	38
Figura 12	Mecanismo de redução da NTZ.....	40
Figura 13	Fluxograma das etapas de preparação da dispersão aquosa de PVA a 10% m/v, reticulação e moldagem dos filmes.....	45
Figura 14	Preparo e incorporação da solução de NTZ ao hidrogel PVAre/TA e moldagem dos filmes.....	46
Figura 15	Foto do hidrogel de PVAre/TA-NTZ.....	54
Figura 16	Curva de calibração espectrofotométrica da nitrofurazona.....	56
Figura 17	Perfil de liberação de NTZ do hidrogel de PVAre/TA-NTZ.....	60
Figura 18	Foto da placa de Petri com cultura de <i>E. coli</i> ATCC 24922.....	61
Figura 19	Foto da placa de Petri com cultura de <i>S. aureus</i> ATCC 25083....	62
Figura 20	Foto de placa com cultura de <i>P. aeruginosa</i> ATCC 27853.....	63
Figura 21	Microfotografia do PVAre/TA-NTZ por microscopia eletrônica de varredura.....	64
Figura 22	Espectro de infravermelho da nitrofurazona.....	65
Figura 23	Espectro de infravermelho do hidrogel PVAre/TA.....	66
Figura 24	Espectro de infravermelho de hidrogel PVAre/TA-NTZ.....	66
Figura 25	Curva termogravimétrica (TGA) do hidrogel de PVAre/TA.....	68
Figura 26	Curva termogravimétrica (TGA) do hidrogel de PVAre/TA-NTZ..	68
Figura 27	Calorimetria Exploratória Diferencial (DSC) do hidrogel de PVAre/TA-NTZ.....	69
Figura 28	Calorimetria Exploratória Diferencial (DSC) do hidrogel de PVAre/TA.....	69

LISTA DE TABELAS

Tabela 1	Teorias propostas para fundamentar o processo mucoadesivo.....	20
Tabela 2	Polímeros úteis para aplicação farmacêutica.....	27
Tabela 3	Agentes reticulantes e respectivas aplicabilidades.....	34
Tabela 4	Classificação dos sistemas matriciais.....	37
Tabela 5	Modelos matemáticos de liberação de fármacos.....	38
Tabela 6	Avaliação do intumescimento das amostras de PVArete/GA-NTZ.	55
Tabela 7	Exatidão do método espectrofotométrico.....	58
Tabela 8	Análise espectrofotométrica, C e % de NTZ liberada do hidrogel PVArete/GA-NTZ.....	59
Tabela 9	Relação de bandas obtidas do PVA por IR.....	65
Tabela 10	Principais eventos observados na TGA do hidrogel PVArete/GA-NTZ.....	67
Tabela 11	Força de adesão (Wad) das amostras de hidrogel PVA ret/GA-NTZ.....	70

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

NTZ	Nitrofurazona
ABS	Absorbância
PVA	Álcool polivinílico
PVA-ret	Hidrogel de PVA reticulado
PVA-ret/GA	Hidrogel de PVA reticulado com glutaraldeído
PVA-ret/GA-NTZ	Hidrogel de PVA reticulado com glutaraldeído e incorporado de nitrofurazona
nm	Nanômetro
CV	Coeficiente de variação
DP	Desvio padrão
°C	Graus Celcius
g/L	Gramas de ativo por litro de solução
µg	Micrograma
PBS	Tampão salina fosfato
ATCC	American Type Culture Collection
NCCLS	National Committee for Clinical Laboratory Standards
CLSI	Clinical and Laboratory Standards Institute
MIC	Concentração inibitória mínima
USP	Unites States Pharmacopeia
MEV	Microscopia Eletrônica de Varredura
Wad	Força de adesão

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	14
2 REVISÃO DA LITERATURA	16
2.1 Histórico dos Tratamentos Tópicos para Lesões de pele	16
2.2 Formas farmacêuticas Tópicas	17
2.3 Bioadesão e Mucoadesão	19
2.4 Géis e Hidrogéis ou Hidrocolóides	20
2.5 Polímeros e Sistemas de Liberação de Fármacos	26
2.5.1 Principais Polímeros em Formulações de Liberação Controlada	28
2.5.2 Poli (álcool vinílico) ou Álcool Polivinílico (PVA)	29
2.5.3 Reticulação	31
2.6 Mecanismos de Liberação de Fármacos	36
2.7 Nitrofurazona	38
3 OBJETIVOS	42
3.1 Geral	42
3.2 Específicos	42
4 PARTE EXPERIMENTAL	43
4.1 Material	43
4.2 Equipamentos	44
4.3 Métodos	44
4.3.1 Preparação da formulação	44
4.3.1.1 Preparação da dispersão aquosa de PVA a 10% m/v, reticulação e moldagem dos filmes	44
4.3.1.2 Preparo e incorporação da solução de NTZ ao hidrogel PVaret/GA e moldagem dos filmes	46
4.3.2 Avaliação da capacidade de liberação do ativo a partir do hidrogel PVaret/GA-NTZ	47
4.3.2.1 Avaliação do perfil de intumescimento do filme	47
4.3.3 Teste de Liberação <i>in vitro</i> de NTZ do Hidrogel de PVaret/GA-NTZ, por espectrofotometria em UV	47
4.3.4 Avaliação da Atividade Antimicrobiana a partir da Liberação da Nitrofurazona em Meio de Cultura, pelo Método de Disco-Difusão	48
4.3.5 Caracterização físico-química do hidrogel	50
4.3.5.1 Microscopia Eletrônica de Varredura	50
4.3.5.2 Análise de Umidade por Infravermelho	50
4.3.5.3 Análises Térmicas (TGA e DSC)	51
4.3.5.4 Análise por Espectrofotometria de Infravermelho	51
4.3.5.5 Força Bioadesiva	51
5 RESULTADOS E DISCUSSÃO	53
5.1 Desenvolvimento do hidrogel	53
5.2 Determinação do Perfil de Intumescimento	54
5.3 Avaliação da Liberação de NTZ <i>in vitro</i>	55

5.4 Avaliação da atividade antimicrobiana a partir da liberação da NTZ em meio de cultura, pelo método de disco-difusão.....	60
5.5 Caracterização físico-química do hidrogel	64
5.5.1 Microscopia eletrônica de varredura (MEV).....	64
5.5.2 Espectroscopia de infravermelho.....	64
5.5.3 Análise de Umidade por infravermelho.....	66
5.5.4 Análises Térmicas.....	67
5.5.5 Força Bioadesiva.....	69
6 CONCLUSÃO	71
REFERENCIAS	

1 INTRODUÇÃO

De acordo com Villanova *et al.* (2010) as formas farmacêuticas podem ser discriminadas como tradicionais (ou convencionais), sistemas de liberação de fármacos e sistemas de liberação de fármacos de desempenho terapêutico avançado, sendo que os duas últimas podem ser considerados inovadoras.

Várias formas farmacêuticas têm sido desenvolvidas nos últimos anos como sistemas de liberação modificada de fármaco, tendo em vista vantagens como diminuição da frequência de administração; aumento da adesão ao tratamento por parte do paciente (KUMAR e KUMAR, 2001; ANSEL *et al.*, 2005; GENNARO, 2005; ASANE *et al.*, 2008; ANDREWS *et al.*, 2009); otimização da preservação do efeito terapêutico entre etapas de administração e menor incidência de efeitos indesejáveis resultantes de pontos máximos da concentração do fármaco (LANGER, 1998; BRAZEL, 1999; SADAHIRA, 2001; SWARBRICK, 2007; YOSHIDA, 2009; CID, 2009).

O delineamento das formulações em sistemas de liberação tem sido resultado de estudos utilizando diversos polímeros como adjuvantes farmacotécnicos capazes de controlar a liberação dos fármacos, a partir de diferentes formas farmacêuticas, favorecendo ação terapêutica por intervalos de tempo diferenciados em relação às formas convencionais. A escolha adequada dos polímeros na formulação pode permitir flexibilidade nas fases de intumescimento, erosão e liberação diferenciada de ativos (LOPES, LOBO, COSTA, 2005; REDESCHI, 2006; VILLANOVA *et al.*, 2010).

Entre diversas formas farmacêuticas desenvolvidas, géis e hidrogéis podem ser considerados sistemas de liberação controlada de fármacos, dependendo do tipo de formulação e aplicação em que são utilizados (REDESCHI, 2006). Neste sentido, os filmes de géis e hidrogéis vêm sendo estudados nas últimas cinco décadas para diversas aplicações terapêuticas, pois sua rede estrutural formada por uma cadeia reticulada de polímeros permite a absorção de grande quantidade de fluídos (água ou fluído biológico) sem alteração significativa de suas propriedades mecânicas (PEPPAS, KORSMEYER, 1986; RUIZ, 2001; MIYATA *et al.*, 2001; GUPTA, 2002; PEPPAS, 2002; FALCÃO, 2003; TANAKA *et al.*, 2005).

Os filmes de géis e hidrogéis são estruturas poliméricas tridimensionais contendo elevada quantidade de água e são obtidos, normalmente, a partir da copolimerização entre monômeros ou polímeros hidrofílicos com co-monômeros polifuncionais, que promovem reticulações. As ligações cruzadas conferem aos mesmos a capacidade de absorver grande quantidade de água sem se dissolver. Assim, os hidrogéis podem ser usados na preparação de formas farmacêuticas que permitem a liberação do fármaco após expansão volumétrica em contato com o meio de dissolução ou em resposta à temperatura, ao pH, à força iônica e oxidação bem como a enzimas, glicose, uréia e insulina (VILLANOVA *et al.*, 2010).

Os géis e hidrogéis, dependendo do comportamento reológico e bioadesivo, podem se aderir à superfície de aplicação por períodos suficientemente longos. Estudos afirmam que adequados ajustes nessa propriedade auxiliariam a prolongar a liberação do fármaco no local de aplicação, com vantagens em termos de facilidade de aplicação e remoção (SANTI, 2008; PILLAI e PANCHAGNULA, 2001; TANAKA *et al.*, 2005; LIN e METTERS, 2006).

Apesar dos avanços alcançados nesta área, ainda há muito o que pesquisar, principalmente em países subdesenvolvidos e com elevada incidência e prevalência de lesões tais como úlceras nos pés e pernas, comuns em portadores de diabetes (MANDELBAUM *et al.*, 2003). No Brasil, foi estimado que 12 milhões de cidadãos sofrem com algum tipo de complicação no processo de cicatrização e que 4 milhões são portadores de lesões crônicas (SBD, 2012). Estes números justificam a busca de novos recursos e tecnologias, com menor custo e maior eficácia.

Assim, novos veículos para a aplicação tópica de fármacos têm sido desenvolvidos com o objetivo de estimular a cicatrização de lesões cutâneas persistentes, debelar processos infecciosos da pele que não respondem aos tratamentos tradicionais e também para substituir outras vias de administração, quando necessário (TORSIELLO, KOPACKI, 2000, KINCAID, 2002, ISRAEL 2003; SANTIS, 2008).

Neste contexto, este trabalho teve como propósito desenvolver um filme de hidrogel tópico para incorporação de nitrofurazona e avaliar *in vitro* suas características físico-químicas.

2 REVISÃO DA LITERATURA

2.1 Histórico dos Tratamentos Tópicos para Lesões de Pele

A busca do homem pelo reparo de lesões atravessa os séculos, desde os achados dos registros do Sushruta Samhita, na Índia, datados de aproximadamente 600 a.C (FAVALLI, 2009). Segundo Mandelbaum *et al.* (2003), há registros sobre manuscritos egípcios que datam de 3000-2500 a.C. que mencionam curativos à base de mel, graxa, fios de linho.

No século XIX, durante a Guerra da Criméia, foram criados vários tipos de curativos, à base de fibras de linho e por volta de 1860, Gamgee descobriu o processo de remoção do óleo da lã de algodão, tornando-o absorvível, e criou o chumaço de algodão envolto em gaze, ainda hoje utilizado (FAVALLI, 2009).

Desde 1840, e principalmente a partir da Segunda Guerra Mundial (1939), o tratamento de feridas e a almejada cicatrização voltou-se para a utilização de antissépticos e agentes tópicos com ação antimicrobiana e a proteção com coberturas secas, como consequência às descobertas de Pasteur sobre a "Teoria dos Germes". Nessa fase, segundo Sinclair e Ryan (1993), prevaleceu a utilização de antissépticos a base de hipoclorito de sódio, derivados de iodo, mercúrio e alumínio. Até o final da Segunda Guerra Mundial (1945) acreditava-se que a proteção das lesões deveria ser sob ambiente seco para melhor condição de cicatrização.

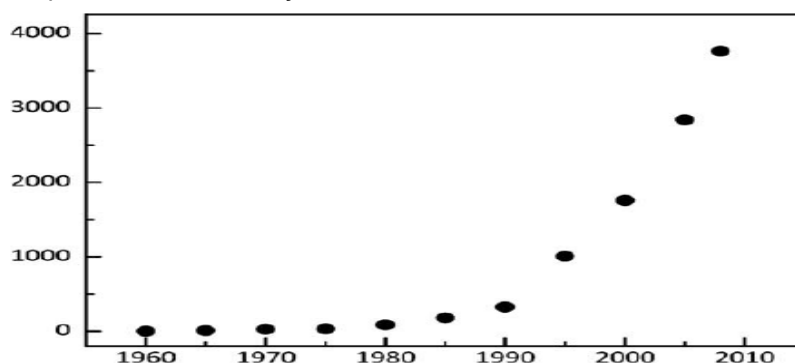
Em 1962, estudos experimentais apontaram taxa de epitelização 50% mais rápida em ambiente úmido, com menor formação de crostas. Postulou-se a premissa de que a criação de um ambiente úmido na ferida trazia efeitos extremamente benéficos para o processo cicatricial, como redução da dor, devido à proteção das terminações nervosas contra o ressecamento. Desde então, houve uma revolução no conceito de curativos (FRANCO e GONÇALVES, 2008).

Na Europa e nos Estados Unidos da América, desde 1982, e no Brasil a partir da década de 90, coberturas a partir de hidrocolóides e hidropolímeros passaram a ser largamente utilizadas (GOLDSMITH, 1996). Atualmente, estão disponíveis numerosos ativos e sistemas curativos, que incluem desde ácidos graxos

essenciais, derivados do ácido algínico, a polivinilpirrolidona, clorexidina, bandagens compressivas, carvão ativado, derivados da prata, filmes semipermeáveis, colágeno biológico. Outras substâncias e produtos também foram citados por Goldsmith (1996) como fatores de crescimento celular; hidropolímeros; hidrogéis, hidrocolóides, enzimas proteolíticas, acetato de celulose e membranas permeáveis ao vapor; protetores cutâneos; curativos com gaze e modernas matrizes de regeneração dérmica.

Ramanathan e Darling (2011) relataram que as publicações na área de polímeros como adjuvantes farmacotécnicos na liberação prolongada de fármacos, aumentaram exponencialmente nas últimas duas décadas, conforme Figura 1.

Figura 1. Representação gráfica das publicações sobre o desenvolvimento de polímeros de liberação sustentada.



Fonte: Ramanathan e Darling (2011).

2.2 Formas Farmacêuticas Tópicas

A via tópica é uma alternativa de interesse para a administração de fármacos (BARRY, 2001; KENDAL, CHONG, COCK, 2007; MARCHIORI *et al.*, 2010; ALMEIDA *et al.*, 2011; SONG *et al.*, 2012), devido a fatores como a elevada taxa de adesão e facilidade de interrupção da administração (TORSIELLO e KOPACK, 2000; ISRAEL, 2003; SIZUE, 2004). A cicatrização de ferimentos é campo no qual tem se observado crescente aplicação de formulações diferenciadas de uso tópico (KINCAID, 2002; HELMKE, 2004).

De acordo com Ansel, Popovick e Allen (2000), as formas farmacêuticas tópicas mais utilizadas são pomadas, cremes, géis (organogéis e hidrogéis) pastas e emplastros. Estas formas constituem diferentes tipos de sistema de liberação dérmica, podendo se adequar na formulação de curativos oclusivos, adesivos

transdérmicos oclusivos, bases de absorção, bases emulsificantes, emulsões a/o, emulsões o/a, umectantes e pós (AULTON, 2005).

Uma ampla variedade de excipientes está disponível para a preparação destas formas farmacêuticas, sendo mais utilizados: glicerídios; ceras; hidrocarbonetos; silicones, polioxietilenoglicóis e análogos; géis de produtos minerais: bentonita; silício; géis de polímeros orgânicos: alginatos, gelose, pectina, metilcelulose e carboximetilcelulose, amido (LE HIR, 1997).

Murphy (2011) afirma que hidrogéis obtidos a partir de diversos polímeros são de particular interesse em tratamento de feridas tópicas devido a sua baixa toxicidade, potencial de liberação estendida de fármacos e características de bioadesividade.

Atualmente, novos veículos para a aplicação tópica de fármacos têm sido desenvolvidos com o objetivo de permitir a cicatrização de lesões cutâneas persistentes que não respondem aos tratamentos tradicionais (ISRAEL, 2003). Entre eles encontram-se o gel de polaxamer 407, que tem sido indicado para o tratamento de queimaduras e como pele artificial (PAOLETTI, 2004), e o PLO (gel de lecitina e polaxamer), também descrito pela sua capacidade de promover a penetração cutânea de fármacos (TORSIELLO e KOPACKI, 2000, KINCAID, 2002, ISRAEL 2003).

Dentre as formas de administração tópica, a maioria foi, a priori, desenhada para interação com tecido íntegro. Contudo, para o caso de tratamento de feridas cutâneas cujo processo é dinâmico e depende a cada momento da evolução das fases de cicatrização, as formas farmacêuticas mais usuais são curativos oclusivos (FRANCO E GONÇALVES, 2008).

Nas feridas abertas, a antiga controvérsia entre curativo seco e curativo úmido deu lugar a uma proposta atual de oclusão e manutenção do meio úmido, tendo em vista as vantagens de prevenir a desidratação do tecido e, desse modo, evitar morte celular. Além disso, pode acelerar a angiogênese, estimular a epitelização e a formação do tecido de granulação, facilitar a remoção de tecido necrótico e fibrina, formar barreira protetora contra microorganismos, promover a diminuição da dor e evitar traumas na troca do curativo.

2.3 Bioadesão e Mucoadesão

O termo bioadesão foi citado pela primeira vez como a ligação de macromoléculas, sintéticas ou naturais, ao muco ou à superfície epitelial (LONGER e ROBINSON, 1986). A bioadesão ou a mucoadesão são propriedades exploradas como estratégia para aumentar o tempo de permanência de um medicamento no organismo, com consequente melhoria da biodisponibilidade (VILLANOVA *et al.*, 2010).

Bioadesividade é uma propriedade presente em materiais poliméricos de formas farmacêuticas que se ligam a substratos biológicos, sendo representada pela força interfacial que mantêm unidos o material adesivo e tecido biológico. A bioadesividade pode ocorrer por adesão na camada mucosa, intensificando em força e tempo o contato entre o veículo contendo o fármaco e a superfície da mucosa (*mucoadesivos*) ou diretamente à membrana celular (*citoadesivos*).

Estas características são exploradas na estratégia de aumentar o tempo de permanência de um medicamento no organismo, otimizar a biodisponibilidade, bem como modular efeitos sítio-específicos visando aumento da efetividade terapêutica dos fármacos e redução de toxicidade sistêmica (VILLANOVA *et al.*, 2010; TARDELLI, 2010).

Figueiras *et al.* (2007) relatam que os fatores que influenciam o mecanismo de mucoadesão estão relacionados com o próprio polímero (peso molecular, concentração do polímero ativo, flexibilidade das cadeias poliméricas e conformação espacial), com o ambiente (pH, força aplicada, tempo inicial de contato e grau de intumescência), variáveis fisiológicas (tempo de renovação do muco, condições patológicas), bem como fatores termodinâmicos e fatores cinéticos.

Segundo Varum *et al.* (2008), o processo de adesão ocorre em duas fases: a fase de contato e a fase de consolidação. Na primeira fase é necessário que ocorra contato próximo entre o sistema bioadesivo e o tecido receptor ou a camada de muco, quando ocorre a transferência de água da camada de muco para o polímero, resultando no intumescimento do polímero acompanhada pelo desenrolamento das cadeias do polímero. Deste modo, as cadeias do polímero adquirem maior mobilidade para poderem se interpenetrar com as cadeias glicoprotéicas do muco. Na segunda fase, o estabelecimento de ligações químicas entre o polímero e o

muco contribui para a consolidação do fenômeno mucoadesivo (Figueiras *et al.*, 2007; Nangia, 2009).

A bioadesão implica na ligação do sistema transportador de fármaco a um substrato biológico, designado de mucoadesão, no caso de membranas mucosas e pode ser explicada por seis teorias: eletrônica, adsorção, molhabilidade, difusão, fratura e mecânica, respectivamente apresentadas de forma resumida na Tabela 1. Contudo, o processo mucoadesivo não pode ser explicado no seu todo por apenas uma das teorias, mas uma combinação de várias (FIGUEIRAS *et al.*, 2007; CARVALHO *et al.*, 2010).

Tabela 1. Teorias propostas para fundamentar o processo mucoadesivo.

Teoria	Mecanismo proposto
Eletrônica	Formação de uma bicamada elétrica na interface, devido às diferentes cargas elétricas do polímero e do muco, ocorrendo transferência de elétrons entre as duas camadas.
Adsorção	Forças de Van der Waals, pontes de hidrogênio e interações hidrofóbicas.
Molhabilidade	Energia superficial do polímero e do muco e a energia interfacial.
Difusão	Interdifusão das cadeias do polímero e do muco através da interface. Depende do coeficiente de difusão; da concentração, comprimento das cadeias e sua mobilidade do polímero; tempo e pressão de contato.
Fratura	Assume que a fratura ocorre na interface entre o polímero e a camada de muco e que a força de fratura é igual à força de mucoadesão.
Mecânica	A adesão ocorre por preenchimento da superfície irregular do polímero pelo líquido do muco.

Fonte: VARUM *et al.* (2008)

De acordo com Sudhakar *et al.* (2006), a mucoadesão é fenômeno importante no desenvolvimento de sistemas de liberação de fármacos por via tópica, podendo ser mensurada para identificar a compatibilidade, estabilidade e força de ligação bioadesiva. Neste propósito, hidrogéis e hidrocolóides são formas farmacêuticas com características de bioadesividade que têm sido empregadas, com sucesso, para tratamento de lesões na pele.

2.4 Géis e Hidrogéis ou Hidrocolóides

A forma farmacêutica gel, de acordo com Attwood (2005) é formada, em sua maior parte, pela dispersão de um líquido num sólido. Assim, estas dispersões formam sistemas onde partículas do sólido estão conectadas entre si, formando uma

rede entrelaçada que lhe confere rigidez estrutural. A rede entrelaçada é conseguida através de pequena proporção (cerca de 1%) de fase dispersa em relação ao líquido. Géis liofóbicos ou liofílicos podem ser formados conforme sua estrutura molecular.

Géis liofóbicos mantêm sua estrutura através de ligações químicas relativamente fracas, como forças de van der Waals. Por este motivo apresentam comportamento tixotrópico, o que significa dizer que podem sofrer transformação isotérmica não-química do tipo gel-sol-gel, sob condições de cisalhamento, como a simples agitação, por exemplo. Géis liofóbicos são obtidos empregando hidróxido de magnésio e de alumínio, argilas de bentonita, silicato de alumínio e magnésio, caulin, entre outros (ATTWOOD, 2005).

Géis liofílicos, de acordo com a estabilidade de suas ligações, podem se apresentar de duas diferentes formas: reversíveis e irreversíveis. Géis irreversíveis apresentam uma rede tridimensional intermolecular formada por ligações covalentes, o que pode ser conseguido através da polimerização de monômeros hidrossolúveis em presença de agente reticulante. Este tipo de gel, dito irreversível, intumescer em água sem haver dissolução de suas ligações, mantendo sua estrutura, tendo aplicação em implantes e formas farmacêuticas para liberação prolongada de fármacos. Quando estas ligações são formadas por ligações de hidrogênio, relativamente fracas, os géis são classificados como reversíveis (ATTWOOD, 2005).

Intumescer significa, segundo MATOS (2008), a captura de um líquido por um gel com respectivo aumento de volume, através de solvatação, como função de sua hidrofília, da estrutura de rede formada e do número de grupos ionizáveis presentes na estrutura polimérica. Pode ser descrito ainda como o processo de dissolução de um polímero em um solvente, a partir da difusão do solvente para dentro do polímero, produzindo intumescência do gel.

Quando um polímero é colocado em um meio aquoso, as interações positivas entre a estrutura química da macromolécula e a água, como por exemplo, ligações de hidrogênio promovem o intumescimento. À medida que as moléculas de água penetram na matriz as cadeias poliméricas tornam-se mais estendidas com consequente expansão e ordenamento da estrutura polimérica. Uma vez que este fenômeno é desfavorecido entropicamente, passa a existir, deste modo, uma força motriz no sentido oposto ao da força osmótica das moléculas de água em permearem o hidrogel.

Quando a força osmótica de moléculas de água envolvidas no sistema polimérico é balanceado pela força exercida pelas cadeias poliméricas em resistir ao processo de expansão, diz-se que neste ponto o equilíbrio no intumescimento foi atingido. Alguns dos fatores responsáveis pelo intumescimento dos hidrogéis em meio aquoso são, a alta flexibilidade da cadeia da macromolécula, baixa densidade de ligações cruzadas, fortes interações com a água e a existência de um potencial osmótico (FALCÃO, 2003).

Muitos sistemas dispersos de interesse farmacêutico são de natureza coloidal hidrofílica, formados a partir de polímeros hidrossolúveis lineares ou ramificados, nos quais o tamanho molecular excede 50 a 100 Å (5 a 100 nm). Nestes sistemas, as partículas intumescem em contato com a água, mas não se dissolvem, resultando nos chamados hidrocolóides ou hidrogéis (GENNARO, 2005).

Segundo Hoffman (2002), desde 1960 vêm sendo desenvolvidos hidrogéis utilizando hidroxietilmetacrilato. A partir de 1980 empregaram-se, microcápsulas de alginato, colágeno e cartilagem de tubarão para tratamento tópico de queimaduras. Nestes sistemas, de acordo com Van Olphen (1977), a fase dispersa consiste de sólidos que, em água, se rompem espontaneamente em partículas de dimensões coloidais, elevando a superfície de hidratação, a partir de formatos tridimensionais característicos. Exemplificam-se neste sistema os silicatos de alumínio (bentonita, caulin); silicato de alumínio e magnésio; a atapulgita; o dióxido de silicone coloidal; o dióxido de titânio, a celulose microcristalina, entre outros.

Hidrogéis são usados extensivamente em aplicações biomédicas como lentes de contato intra-oculares e de contato, pele artificial, matriz para crescimento de tecidos e para encapsulamento e liberação controlada de fármacos. Estes materiais formam polímeros que podem absorver de 10 a 20% a até milhares de vezes seu peso seco em água, dependendo da massa molar entre ligações cruzadas (ORÉFICE, 2006). Os hidrogéis também têm sido propostos como sistema de liberação controlada para uma série de agentes bioativos com ação contraceptiva, antibiótica, antiarrítmica, antineoplásica e anticoagulante (RANADE *et al.*, 2003).

Peppas *et al.* (2000) descreveram hidrogéis como resultado de redes poliméricas hidrofílicas tridimensionais capazes de absorver grandes quantidades de água ou de fluídos biológicos, sendo compostos por homopolímeros ou copolímeros. Ainda enfatizam que os hidrogéis são insolúveis devido à presença de ligações químicas ou físicas cruzadas, exibindo compatibilidade termodinâmica com a água e

no intumescimento em meio aquoso. Estas características poderiam ser controladas pela estrutura da rede, hidrofília e grau de reticulação. Hamidi *et al.* (2008), Kim *et al.* (2008), Soto e Oliva (2012) afirmaram que a afinidade com a água é atribuída à grupos hidrofílicos, tais como a hidroxila (-OH), carboxila (-COOH), amida (-CONH₂) e sulfônico (-SO₃H) presentes na estrutura do polímero. Estes grupos contribuem para a hidratação em graus diferentes, dependendo da natureza do ambiente aquoso e composição do polímero.

Segundo relatos de Hamidi e colaboradores (2008), para se conseguir um sistema hidrogelatinoso com parâmetros físico-químicos pré-determinados e perfil de liberação bem definido, é importante ter conhecimento químico da síntese das redes poliméricas, características quantitativas e de moldagem dos materiais, parâmetros de interação, cinética de liberação e/ou desintegração e fenômenos de transporte. Os hidrogéis podem ser classificados segundo uma variedade de características, que incluem:

- natureza dos grupos laterais (neutros ou iônicos)
- características mecânicas e estruturais,
- método de preparação (homo- ou co-polímero),
- estrutura física (amorfo, semicristalino, hidrocoloidal)
- sensibilidade a estímulos ambientais (pH, forças iônicas, temperatura, e radiação eletromagnética)
- natureza do monômero (hidrofílico ou hidrofóbico, natural ou sintético)

Para Rohr (2007) os hidrogéis ou hidrocolóides são compostos de polímeros hidrofílicos de cadeia longa, de origem vegetal (extraídos de plantas marinhas, sementes, exsudados de árvores), animal (extrato de colágeno animal), por síntese microbiana ou sintético (por modificação de polissacarídeos naturais).

Hidrogéis que apresentam ligações cruzadas entre cadeias dos seus polímeros permitem extenso intumescimento sem dissolução, o que lhes permite atuar como matrizes para formas de liberação controlada de fármacos, sendo que hidrogéis de natureza não-iônica possuem estabilidade em ampla faixa de pH, tornando-se possível a veiculação de substâncias de caráter ácido e os de caráter aniônico são pH dependentes, ou seja apresentam-se estáveis em pH neutro ou próximo do neutro (CORRÊA *et al.*, 2005).

Os polímeros hidrofílicos, geralmente, apresentam muitos grupos hidroxilas e, dependendo da sua estrutura, podem apresentar características de polieletrólitos de alto peso molecular, que lhes proporciona a capacidade de se dissolverem ou dispersarem em água e levar o sistema a um espessamento ou efeito de aumento de viscosidade e à formação de géis. Assim, as diferenças entre hidrocolóides decorrem de suas configurações e distribuição espacial monomérica, das ramificações e da condição de apresentarem características de polieletrólitos (CORRÊA *et al.*, 2005; ROHR, 2007).

Os hidrocolóides podem exibir uma larga escala de conformações em solução, uma vez que ao longo da cadeia polimérica, as ligações podem girar livremente dentro da região intermolecular, podendo alterar as propriedades físicas e mecânicas das soluções ou suspensões.

Tais propriedades são influenciadas pelo peso molecular, pelo tipo de estrutura, por sua origem natural ou sintética e, neste último caso, pelo método de preparação (CHAPLIN, 2006).

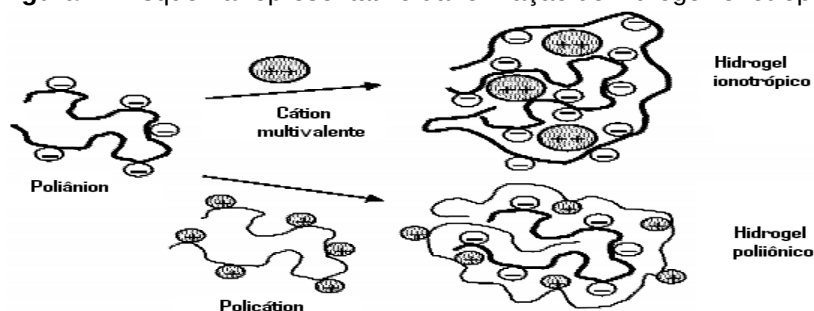
Quanto à aplicabilidade, os hidrogéis podem ser utilizados como agentes de suspensão, floculação, estabilização de espuma, formação de película e de filmes, controle da cristalização, inibição de sinerese, encapsulação, clarificante, desmoldante, geleificante, retentor de umidade, emulsificante, espessante e estabilizante de soluções e suspensões (PHILLIPS, 2000; CHAPLIN, 2006).

Os mais importantes parâmetros utilizados para caracterizar a estrutura da rede dos hidrogéis são a fração volumétrica no inchamento (medida da quantidade de líquido absorvido e retido pelo hidrogel), massa molar média entre ligações cruzadas (medida do grau de ligações cruzadas do polímero) e o tamanho do poro da rede. Assim, os hidrogéis podem ser macroporosos (entre 50 nm a 1000 nm); microporosos (entre 5 nm a 50 nm) e não porosos (que só existem ao nível molecular), segundo PEPPAS(2000).

Além disto, para resultados significativos, de acordo com Santis (2008), é importante avaliar as propriedades físico-químicas destas formulações (microscopia, pH, viscosidade, teor do ativo, reologia, velocidade de liberação do fármaco) e a penetração/permeação do mesmo nas camadas da pele, se assim o for necessário, como forma de prover o controle de qualidade das formulações sob aspecto biofarmacotécnico.

Segundo HOFFMAN (2002), hidrogéis podem ser obtidos através de diferentes metodologias, conforme figuras 2, 3, 4 e 5. Na figura 2 está demonstrada a formação do hidrogel através da reticulação que ocorre a partir da interação iônica de grupos do poliânion (alginato, dextrana, pectina e outros) com contra-íons divalentes, como o Ca^{++} , Mg^{++} , entre outros, ou policações (quitosana, polilisina, entre outros), sendo então chamados de hidrogéis ionotópicos e poliiônicos, respectivamente, ou ainda como complexos polieletrólíticos (BERGER *et al.*, 2004).

Figura 2. Esquema representativo da formação de hidrogel ionotrópico e poliiônico.

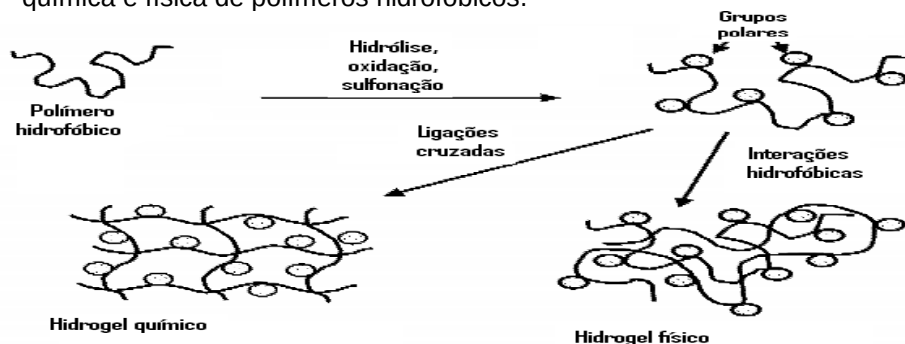


Fonte: adaptado de HOFFMAN (2002)

Na figura 3 ilustra a formação de hidrogéis por modificação química de polímeros hidrofóbicos. Exemplos deste tipo de reação: hidrólise parcial de grupos acetato em grupos -OH, obtidos durante a conversão de PVAc (polivinil acetato) em PVA e, neste caso, sob reação com reticulantes como o glutaraldeído, quando ocorre reação cruzada intercadeias, formando hidrogéis pelo método químico.

No segundo exemplo, pode-se formar hidrogel pelo método físico a partir da hidrólise parcial de PAN (poli acrilonitrila) em um polímero contendo concentrações variadas de grupos acrilonitrila, amida e carboxila.

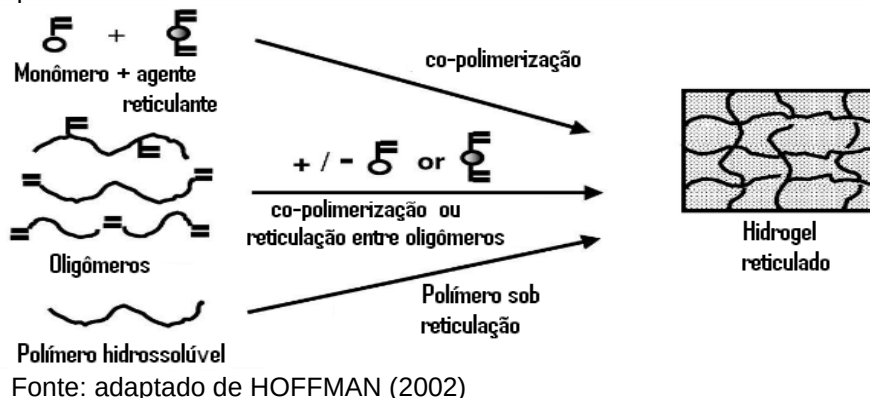
Figura 3. Esquema representativo da formação de hidrogel por modificação química e física de polímeros hidrofóbicos.



Fonte: adaptado de HOFFMAN (2002)

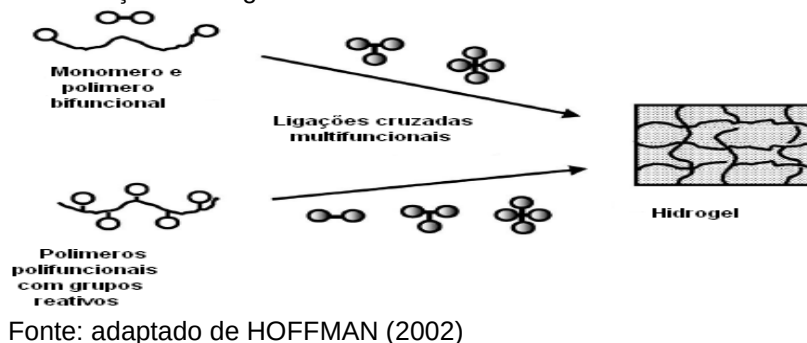
A figura 4 ilustra a formação de hidrogéis a partir da utilização de monômeros, oligômeros ou polímeros com finalidade de co-polymerização e de reticulação. Exemplo de polímero é o polihidroxietil metacrilato (PHEMA) e o PVA, e de agente reticulante é o polietilenoglicol (PEG) ou o glutaraldeído.

Figura 4. Esquema representativo de formação de hidrogel polymerizado com polímeros hidrossolúveis.



O esquema da figura 5 ilustra hidrogel formado a partir de muitos polissacarídeos, colágeno, poli (ácido acrílico) e álcool polivinílico, que apresentam propriedade de reagente multifuncional devido ao número de $-OH$, $-CONH$, $-CONH_2$ e $-SO_3H$ disponíveis, o que eleva a afinidade com a água, conforme Hamidi *et al.* (2008) e Kim *et al.* (2008a).

Figura 5. Esquema representativo da formação de hidrogéis por reações de condensação de reagentes multifuncionais.



2.5 Polímeros e Sistemas de Liberação de Fármacos

Polímero é uma palavra derivada do grego onde *polys* significa muitos e *meros* significa partes. De maneira geral, a massa molecular varia entre 10^3 e 10^6 g.mol⁻¹ e são dependentes do tipo de monômero e das condições de polymerização (MANO e MENDES 2004). Portanto, os polímeros são basicamente substâncias de

alto peso molecular, também chamadas de macromoléculas. Os principais polímeros utilizados na formulação de sistemas diferenciados de liberação de fármacos encerram princípios naturais, semi-sintéticos ou sintéticos (CORRÊA *et al.*, 2005, TARDELLI, 2010).

Segundo Lopes, Lobo e Costa (2005), do ponto de vista tecnológico, um sistema de liberação pode ser definido como aquele que controla a liberação de substância ativa, molecularmente dispersa ou dissolvida num suporte resistente à desintegração (polímero ou agente formador da matriz) e os polímeros estão dentre os excipientes mais utilizados em tecnologia farmacêutica devido a suas diferentes aplicações e funcionalidades, especialmente em formas farmacêuticas de liberação controlada de fármacos. A escolha do polímero ideal como componente de uma formulação para liberação controlada de fármacos depende de vários fatores. Estes fatores se correlacionam às propriedades do fármaco, a própria estrutura polimérica e aos demais excipientes que comporão a formulação, bem como do mecanismo pretendido de liberação do fármaco (OLIVEIRA e LIMA, 2006).

Em função da estrutura da cadeia, segundo Silva (2006), basicamente há dois tipos de arranjo: moléculas simples, que podem ser lineares ou ramificadas, e moléculas reticuladas.

As moléculas simples podem ser lineares ou ramificadas e a ramificação modifica em muito as propriedades dos polímeros, ficando assim dependente do tamanho e da quantidade de cadeias laterais.

Moléculas poliméricas de rede cruzada resultam da reticulação de polímeros lineares ou ramificados, ou mesmo direto da polimerização de um ou mais monômeros. Sua configuração é definida pelo método de polimerização e o polímero preserva essa configuração até que haja uma reação química. Conforme Orefice *et al.* (2006), no caso de reticulação química, mudanças na configuração requerem ruptura das ligações químicas do tipo covalente que ocorrem intra e intercadeias do polímero e deste com o agente reticulante, resultando em resistência mecânica e física e configurando matrizes com elevada insolubilidade e com considerável expansão de volume em contato com certos solventes.

2.5.1 Principais Polímeros Utilizados em Formulações Farmacêuticas de Liberação Controlada

Os polímeros são constituintes praticamente indispensáveis na preparação de sistemas de liberação controlada de fármacos, devido a fatores como facilidade e baixo custo de obtenção e biocompatibilidade (REDESCHI, 2006). No entanto, a avaliação das propriedades dos materiais poliméricos é de grande importância durante o delineamento de sistemas de liberação de fármacos, uma vez que muitos dos resultados obtidos em relação ao perfil de liberação de um dado fármaco estão diretamente ligados às propriedades do polímero, assim como as interações existentes entre o fármaco e o polímero e/ou na associação entre polímeros. Em função disto, vários polissacarídeos vêm sendo amplamente estudados como materiais de revestimento, no processo de formação de géis e em outras aplicações na tecnologia de liberação controlada de fármacos (VALENTA; SCHULTZ, 2004; REDESCHI, 2006; VILLANOVA, 2010).

Os hidrogéis preparados a partir de polímeros de origem natural oferecem propriedades vantajosas, tais como baixa toxicidade e biocompatibilidade, tendo sido considerados apropriados para diferentes aplicações nos sistemas de liberação de fármacos (REDESCHI, 2006; HAMIDI *et al.*, 2008).

Dentre diversos polímeros naturais utilizados na elaboração de produtos farmacêuticos podem-se destacar as gomas (xantana, dextrana, pululana, gelana, logusta, carragena), quitosana, pectina, alginato, sulfato de condroitina, gelatina, dextrina, hialuronana e polilisina. Exemplos de polímeros sintéticos são: bisacrilamida, poli(acrilamida) (PAm), PEG, PVA, PAA, poli(ácido metacrílico) (PMAA), poli(acrilato de butila) (PBA), poli(metacrilato de metila) (PMMA), poli(N-isopropil acrilamida), PVP, poli(fosfazona), PLA, PCL, poli(metacrilato de 2-hidroxietila) (PHEMA), poli(oligo(óxido de etileno)monometiléter metacrilato) (POEOMA) contendo ligações cruzadas por grupos tióis e copolímeros diversos (VILLANOVA *et al.*, 2010).

Para Attwood (2005), entre os polímeros sintéticos e semi-sintéticos utilizados em formulações farmacêuticas de liberação controlada podem ser citados também a metilcelulose, carboximetilcelulose, hidroxipropilcelulose e hidroxipropilmetilcelulose. A tabela 2 apresenta alguns polímeros (naturais e sintéticos) úteis na síntese de hidrogéis para aplicação farmacêutica.

Tabela 2. Polímeros (naturais e sintéticos) úteis para aplicação farmacêutica

TIPO	EXEMPLOS
Polímeros naturais e seus	Aniônicos: HA, ácido algínico, pectina, goma carragena,

derivados	condroitina sulfato, dextran sulfato. Catiônicos: quitosana e polilisina Anfipáticos: colágeno e gelatina, carboximetilcelulose, quitina, fribina. Neutros: goma dextrana, agarose, goma pululana.
Polímeros sintéticos	Poliésteres: PEG-PLA-PEG; PEG PLGA-PEG; PEG-PCL-PEG; PLA-PEG-PLA; P(PEG/PBO tereftalato).
Combinações de polímeros naturais e sintéticos:	P(PEG-co-peptídeos), alginato-g-(PEO-PPO-PEO); P(PLGA-co-serina); colágeno-acrilato; alginato-acrilato; P(HEMA-g-peptídeo); HA-g-NIPAAm.
Outros polímeros:	PEG-bis-(PLA-acrilato); PEG-g-P(AAm-co-Vamina), PAAm; P(NIPAAm-o-AAC); P(NIPAAm-co-EMA); PVAc/PVA; PNVP; P(MMA-co-HEMA); P(NA-co-alil-sulfonato); P(biscarboxi-fenoxi-fosfato); P(GEMA-sulfato)

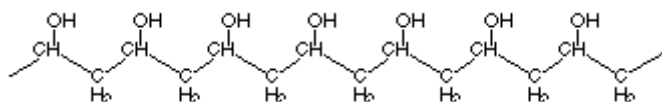
Legenda: EG, etilenoglicol; EGDMA, etilenoglicol dimetacrilato; HA, ácido hialurônico; HEMA, hidroxietilmetacrilato; MBAAm, metileno-bis-acrilamida; P: poli; PAAc, poli(ácido acrílico); PAAm, poliacrilamida; PEG:, poli(etilenoglicol); PEO: poli(óxido de etileno); EMA: etil metacrilato; HEMA: hidroxietil metacrilato; PLA: poli(ácido láctico); PLGA: poli(ácido láctico-co-glicólico); NIPAAm: (N-isopropil acrilamida); PNVP: poli(N-vinil pirrolidona); PPO, poli(óxido de propileno); PVA: poli(álcool vinílico); PVAc, poli(vinil acetato); PVamina, poli(vinil amina). Fonte: Adaptado de HOFFMAN (2002).

A escolha do tipo de polímero e da quantidade presente na formulação da matriz é essencial para obter combinação adequada dos vários mecanismos (intumescimento, dissolução ou erosão) envolvidos na cinética da liberação *in vitro*. A importância da melhor compreensão destes mecanismos reside, entre outras vantagens, na possibilidade de modulação e de um controle mais eficaz da liberação de fármacos incorporados no sistema matricial (LOPES, LOBO e COSTA, 2005).

2.5.2 Poli (álcool vinílico) ou Álcool polivinílico (PVA)

O poli (álcool vinílico), também conhecido por álcool polivinílico (Polvidone®) tem fórmula molecular $[\text{CH}_2\text{CHOH}]_n$ e formula molecular representada na figura 6, apresenta temperatura de transição vítrea (T_g) de 85°C e temperatura de fusão de 220°C.

Figura 6. Representação da fórmula estrutural do PVA.



Fonte: <http://www.liv.ac.uk/chemistrywww/Events/MolsMaterials/PVA.html>, acesso em 20/06/12.

De acordo com Aranha e Lucas (2001), o PVA apresenta as seguintes características: é polímero sintético e hidrofílico, usado principalmente em solução,

sendo solúvel em solventes altamente polares e hidrófilos, tais como dimetilsulfóxido (DMSO), acetamida, diversos glicóis (etilenoglicol, polietilenoglicol, propilenoglicol, polipropilenoglicol), dimetilformamida e água.

As propriedades de solubilidade do PVA dependem do grau de polimerização e do grau de hidrólise. Desta forma, quando completamente hidrolisado, o elevado número de hidroxilas (Figura 6) leva à formação de ligações de hidrogênio fortes entre grupos hidroxilas intra e intermoleculares, impedindo sua solubilização em água, a frio. Por outro lado, os grupos acetato residuais no PVA parcialmente hidrolisado são essencialmente hidrófobos e enfraquecem as ligações intra- e intermoleculares dos grupos hidroxila vizinhos, elevando a solubilidade em água, a frio. Assim, no PVA 98% hidrolisado, a solubilidade aumenta com a diminuição do grau de polimerização, o PVA parcialmente hidrolisado (88%) tem solubilidade relativamente independente do grau de polimerização e o PVA 80% hidrolisado apresenta solubilidade a baixa temperatura muito maior que para o 88% hidrolisado, mas decresce rapidamente a partir de 30°C.

O efeito da temperatura na solubilidade está associado à quebra das ligações de hidrogênio intra- e inter-moleculares. Com o aumento da temperatura, as ligações de hidrogênio são rompidas diminuindo as forças intra- e inter-moleculares e, com isso, a solubilidade aumenta.

Devido aos grupos hidroxila em sua estrutura, PVA é capaz de formar complexos por meio da transferência de cargas com ânions e formar ligações de hidrogênio entre as cadeias do polímero e de agentes reticulantes, propiciando propriedades intumescíveis e formadoras de filmes de revestimento e também hidrogéis termorrígidos (RAVI, 2007; NAKAGAWA, 2006; OREFICE *et al.*, 2006) e liofílicos (ATTWOOD, 2005; ALVES, 2005).

PVA tem sido utilizado em geis, hidrogéis e filmes como carreador de medicamento, devido às suas propriedades de degradabilidade e não toxidez, sendo considerados biocompatíveis com os tecidos em geral e mesmo com as proteínas plasmáticas e, por esta razão, tem sido usado em numerosos sistemas de liberação diferenciada de fármacos. Como exemplos, formas farmacêuticas destinadas ao tratamento de úlceras tópicas, membranas de diálises, em cartilagens e discos intervertebrais artificiais e lentes de contato (SUZUKI *et al.*, 1998; SEABRA *et al.*, 2004; LIU *et al.*, 2009; SOUZA e BARBOSA, 2009; SUNG *et al.*, 2010 e GUPTA *et*

al., 2012) são modelos de aplicação sítio-específica em que o polímero tem sido empregado.

Jannesari *et al.* (2011) desenvolveram nanofibras de PVA e polivinilacetato, com relevantes resultados em liberação prolongada, sítio-específico, de ciprofloxacino em úlceras superficiais induzidas em camundongos. Murphy *et al.* (2011) criaram uma forma copolimerizada de PVA/tetrahidroxiborato com finalidade de liberação de borato em úlceras superficiais induzidas em ratos, com resultados positivos.

Na área veterinária, diferentes autores relataram o desenvolvimento de formas farmacêuticas para liberação prolongada de dois diferentes antibióticos a partir de hidrogel de PVA. Hwang *et al.* (2010) desenvolveram curativos de PVA/dextrana com gentamicina em liberação prolongada para tratamento de úlceras induzidas em ratos com resultados expressivos. Kim *et al.* (2008a, 2008b) empregaram curativos tópicos com formulação de PVA copolimerizado com alginato sódico e clindamicina e nitrofurazona, respectivamente, para o tratamento de feridas de pele em experimento animal, sugerindo que a forma desenvolvida pode ser considerada terapeuticamente promissora.

Os modelos anteriormente citados apresentam como aspecto comum a formulação de hidrogel de PVA associado a copolímeros por ligações cruzadas intermoleculares. Segundo Sousa e Barbosa (2009), em geral, estes monômeros polimerizam e originam macromoléculas lineares, solúveis em solventes quimicamente compatíveis. Assim, PVA vem despertando o interesse como polímero sintético aplicável em formas de liberação prolongada de fármacos em várias áreas biomédicas, devido a sua versatilidade e aplicabilidade, isoladamente e associado a co-polímeros.

2.5.3 Reticulação

O desenvolvimento de sistemas de liberação controlada de fármacos está diretamente ligado ao emprego de sistemas matriciais permeáveis à água e capazes de reter ou adsorver, transportar e liberar as substâncias eficientemente, conforme Neto *et al.* (2005) e ratificado por Gonsalves *et al.* (2011).

A reticulação visa principalmente modificar as propriedades de estabilidade química e térmica, rigidez estrutural, permeabilidade, cor, eficiência em quelação e

capacidade de imobilização protéica e celular (NETO *et al.*, 2005). A reticulação constitui-se em um método de transformação de polímeros na produção de hidrogéis que reduz a porosidade do material obtido e, assim, a permeabilidade à água e a difusão de possíveis substâncias aprisionadas nas redes poliméricas formadas (ORÉFICE *et al.*, 2006; CANEVAROLO, 2006).

A reticulação, também denominada de reação de entrecruzamento, é um tipo de modificação que visa unir cadeias poliméricas, ou ainda, ligar suas cadeias às de outros polímeros gerando redes poliméricas híbridas, que ocorrem por meio da reação entre sítios reativos específicos presentes nas unidades estruturais do polímero e alguns reagentes reticulantes os quais, na concepção de Gonsalves *et al.* (2011), são substâncias que apresentam baixa massa molar e grupos funcionais reativos capazes de permitir a formação de ligações inter ou intracadeias poliméricas.

Partindo destas ligações cruzadas, a massa molar do polímero tende ao infinito na medida em que há interconexão total das entidades poliméricas (ORÉFICE *et al.*, 2006).

Segundo Li *et al.* (2009) submeter um polímero à reticulação representa uma maneira eficiente de produzir materiais insolúveis e, dessa forma, modificar o perfil de liberação do fármaco em função do grau de reticulação obtido.

Para Oréfice *et al.* (2006) e Canevarolo (2006), a reticulação é um método de copolimerização, que propicia ao polímero a alteração de propriedades de temperatura de transição, comportamento químico e solubilidade, em decorrência da manutenção de duas ou mais cadeias poliméricas unidas por meio da criação de ligações covalentes, evitando deformação permanente e conferindo características elásticas e plásticas ao material reticulado.

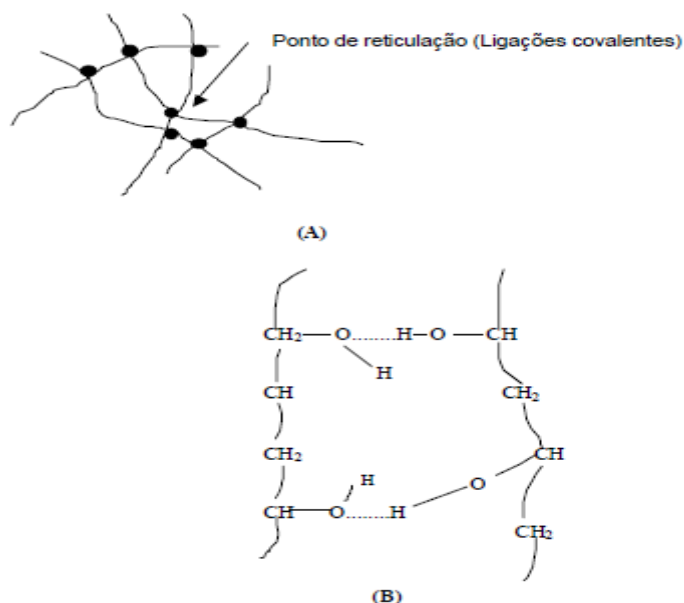
Segundo Sadahira (2007), existem métodos químicos e físicos que podem ser utilizados para a formação das ligações cruzadas que constituem a reticulação nos hidrogéis:

- No método químico (Figura 7A), as ligações covalentes (ligações primárias fortes) mantêm as cadeias presas e definem condição típica de polímeros termorrígidos (ORÉFICE *et al.*, 2006).
- No método físico, ocorre formação de ligação cruzada, através de radiação ionizante, que resultada na recombinação de macroradicais (Figura 7B).

Neste método, atrações eletrostáticas fortes passam a ocorrer entre as regiões catiônicas do polímero e sítios aniônicos de um agente de entrecruzamento com essa característica particular (GONSALVES *et al.* 2011).

GONSALVES *et al.* (2011) afirmam que apesar das vantagens associadas ao método físico de reticulação, como o mecanismo reacional simples e o procedimento experimental realizado em etapa única, os resultados tem demonstrado menor estabilidade às alterações do pH e de força iônica do meio, tornando esse processo de reticulação reversível, diferentemente do método químico.

Figura 7. Estruturas representando a reticulação química (A) e física (B) de hidrogéis poliméricos.



Fonte: FALCÃO (2003)

Oréfica *et al.* (2006) apontam que a formação de reticulados poliméricos relacionam-se com a transição sol-gel. Estes autores explicam que sol é formado por polímeros ramificados dissolvidos no monômero, nos quais as cadeias crescem e levam ao estabelecimento da gelificação, resultando no reticulado tridimensional, característico de monômeros vinílicos polifuncionais conforme PVA e glutaraldeído.

De acordo com Júnior (2007) e Gonsalves *et al.* (2011), o glutaraldeído é um dos mais citados na literatura como reticulantes químicos. A tabela 3 apresenta diversos reticulantes e suas aplicabilidades.

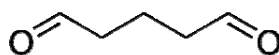
Tabela 3. Agentes reticulantes e respectivas aplicabilidades.

Agente reticulante	Aplicação
Glutaraldeído	Microesferas para liberação de teoflina, hidrogéis para liberação controlada de fármacos e biosensor de glicose e de urease
Formaldeído	Filmes para liberação controlada de DNA e microcápsulas para liberação de fármacos
Epicloridina	Membranas para filtração, compósitos para adsorção de creatinina e microesferas para liberação de ampicilina
Genipina	Micelas poliméricas para liberação de fármaco e proteínas, hidrogéis para liberação de fármaco e microcápsulas para encapsulação de células

Fonte: JÚNIOR (2007)

De acordo com Sadahira (2007) o PVA pode ser reticulado com glutaraldeído (figura 8), acetaldeído, formaldeído e outros monoaldeídos. Quando estes agentes são utilizados, em presença de ácido sulfúrico, ácido acético ou metanol, pontes acetais são formadas entre o grupo hidroxila do PVA e o glutaraldeído, um aldeído bifuncional, conforme figura 8.

Figura 8. Representação da estrutura do glutaraldeído.

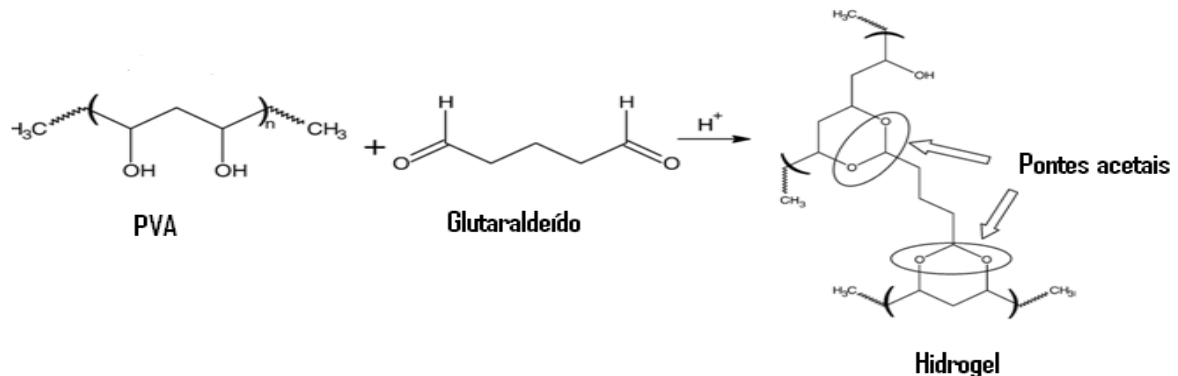


Fonte: LOSER (2011).

Numerosos são os produtos obtidos a partir de formulações com o PVA reticulado tais como: fibras, mantas, membranas, adesivos, revestimento de papéis, estabilizantes para polimerizações, lentes de contato, componentes artificiais do organismo e filmes e em preparações farmacêuticas, como os hidrogéis.

Em recente trabalho com reticulação de PVA em glutaraldeído, Mansur *et al.* (2008) e Loser (2011) identificaram que o glutaraldeído, no processo de reticulação, reage com quatro hidroxilas do PVA, conforme figura 9.

Figura 9. Reticulação do PVA com glutaraldeído, em meio ácido.



Fonte: adaptado de MANSUR (2008).

Segundo Evangelista (2010):

“destacam-se entre as diversas aplicações do PVA no estado reticulado a fabricação de hidrogéis, e por meio destes, a construção de sistemas de liberação controlada de fármacos, que aprimoram a segurança, a eficácia e a confiabilidade da terapia com fármacos, pois a grande maioria dos fármacos é liberada logo após a administração, causando rápida elevação do mesmo no organismo, para que depois decline também rapidamente. O sistema é baseado em hidrogéis, que por sua natureza macia, minimiza irritações mecânicas, evitando dores e infecções.”

O princípio ativo pode ser tanto aprisionado fisicamente na matriz polimérica por emulsificação, atomização, agitação como base do processo ou pode ser ligado a cadeia polimérica através de ligações físicas ou químicas (YOSHIDA, 2009). A reticulação química envolve a formação de uma ligação covalente na macromolécula com a formação de uma estrutura tridimensional com maior estabilidade mecânica que o hidrogel inicial. Neste caso, são utilizados monômeros polifuncionais para a obtenção do polímero reticulado e o processo de reticulação física envolve a formação de complexos macromoleculares podendo haver a formação de redes poliméricas tridimensionais por intermédio da formação de ligações de hidrogênio, interação dipolo-dipolo ou interações eletrostáticas e através de grupos doadores ou aceptores de elétrons, conforme Falcão (2003) e Soto e Oliva (2012).

2.6 Mecanismos de Liberação do Fármaco

Por definição, o termo “sistema de liberação controlada de fármacos” refere-se à tecnologia utilizada para aperfeiçoar a liberação de um fármaco, onde o princípio ativo deve ser liberado e/ou absorvido, melhorando a resposta terapêutica (ANSEL *et al.*, 1999). Matos (2008) cita ainda, a seguinte definição para liberação controlada de fármacos:

“O termo liberação controlada tem sido associado aos sistemas a partir dos quais os fármacos são liberados a velocidades pré-definidas, por um período de tempo prolongado após a sua administração. Produtos deste tipo têm sido formulados para administração oral, injetável e tópico, incluindo implantes que podem ser colocados em várias partes do corpo”.

O sucesso de sistemas de liberação diferenciada de fármacos está relacionado com a tecnologia de fabricação e com as características físicas e físico-químicas do polímero, responsáveis pelo mecanismo de liberação (LOPES *et al.*, 2005).

A classificação dos sistemas de liberação prolongada leva em consideração diversos critérios: a estrutura da matriz, a cinética de liberação, os mecanismos para controlar a liberação (difusão, erosão, osmose e intumescimento), a natureza química e as propriedades dos materiais utilizados (YOSHIDA, 2009). A erosão, a difusão e o intumescimento das matrizes são os mecanismos pelos quais os sistemas matriciais podem controlar a liberação das substâncias ativas. A predominância de um destes mecanismos depende invariavelmente das propriedades do polímero empregado no sistema.

De um modo geral, quando as estruturas matriciais entram em contato com o meio de dissolução (ou fluido biológico) podem manter a sua estrutura mais ou menos constante ao longo de todo o processo de dissolução ou podem sofrer um fenômeno de intumescimento e, posteriormente, de erosão (LOPES, LOBO e COSTA, 2005).

Nos sistemas matriciais, o fármaco pode estar homogeneamente disperso na matriz polimérica, dentro de um reservatório ou adsorvido em sua superfície e em sua liberação estão envolvidos processos físicos e químicos: penetração de água na matriz, difusão do fármaco pelos poros da matriz ou por degradação do polímero ou,

ainda, por uma combinação dos dois mecanismos. São consideradas matrizes monolíticas quando o fármaco é disperso em uma matriz polimérica e sua liberação é controlada por difusão a partir dessa matriz. Nessas matrizes monolíticas o fármaco pode estar distribuído uniformemente e imobilizado na matriz, sendo que a liberação ocorre por erosão da matriz polimérica. Pode ainda, ocorrer ligações covalentes entre o fármaco e matriz, quando então a liberação se dará por cisões formadas através de reações químicas, geralmente enzimáticas, hidrolíticas ou pela biodegradação da matriz (VENDRUSCOLO *et al.*, 2005).

A liberação do fármaco da matriz depende de fatores inerentes ao tipo de matriz e do tipo do reservatório, conforme aponta a tabela 4.

Tabela 4. Classificação dos sistemas matriciais

Sistema	Tipo	Modo de ação
Matrizes minerais	Reservatório	-Fármaco retido no reservatório - Fármaco adsorvido ao suporte
Matrizes hidrofóbicas	Monolítico	-Intumescimento ilimitado, liberado por difusão -Intumescimento ilimitado, liberação controlada pelo intumescimento.
Matrizes inertes	Monolítico	-Liberação controlada por difusão
Matrizes lipídicas	Monolítico	-Liberação por difusão
Matrizes biodegradáveis lipídicas	Monolítico não	-Bio-erosão

Fonte: LYRA *et al.* (2007).

Alguns exemplos de substâncias utilizadas para a preparação de matrizes hidrófilas são a metilcelulose, hidroxipropilmetilcelulose, carboximetilcelulose sódica entre outros derivados da celulose; as gomas xantana, pululana, tragaganta, carragena e outras; o ágar; o alginato de sódio; o carbopol e os derivados do óxido de polietileno (LOPES, LOBO e COSTA, 2005).

Diversos modelos matemáticos explicam como o fármaco pode ser liberado a partir da matriz polimérica (Tabela 5).

Tabela 5. Modelos matemáticos de liberação de fármacos

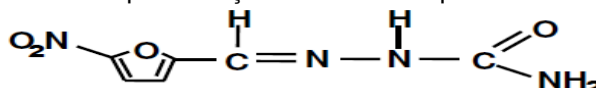
$\frac{dQ}{dt} = \frac{DS\Delta C}{e}$	Equação 1 - Lei de Fick Aplicado quando a difusão fickiniana é o único mecanismo de liberação do fármaco. dQ/dt é a velocidade ao atravessar a membrana; D é o coeficiente de difusão; S é a superfície de contato entre solução e membrana; ΔC é a diferença de concentração do fármaco entre os dois lados da membrana; e é a espessura da membrana.
$\frac{Mt}{M^\infty} = Kt^n$	Equação 2 Modelo matemático simples que descreve a liberação do fármaco a partir de um sistema polimérico. Esta equação pode ser utilizada para analisar os primeiros 60% de fármaco liberado, a partir da curva onde a liberação é linear. Mt é a quantidade do fármaco em função do tempo. M^∞ é a quantidade total da droga; K é a constante cinética da liberação e n é o expoente para cinética de liberação.
$\frac{Mt}{M^\infty} = K_1t^m + K_2t^{2m}$	Equação 3 Modelo matemático que leva em consideração a difusão fickiniana (primeiro termo da equação) e a contribuição do relaxamento e intumescimento da matriz polimérica (segundo termo da equação), onde m é o expoente para a cinética de liberação.

Fonte: LYRA *et al.* (2007)

2.7 Nitrofurazona ou Nitrofural

A nitrofurazona (NTZ), também chamada nitrofural, tem a fórmula molecular $C_6H_6N_4O_4$, massa molecular=198,14 g/Mol, ponto de fusão 238 °C e descrita como o 5-nitro-2-furfural semicarbazona, conforme figura 10.

Figura 10. Representação da estrutura química da nitrofurazona



Fonte: Software HYPERCHEM versão 7.0

Em solução, aparece nas formas tautoméricas hidrazona e azo (figura 11) e sua identificação por espectrofotometria ocorre entre 220 e 400 nm (ultravioleta), apresentando 2 máximos de absorção, respectivamente em 260 e em 375 nm (FARMACOPEIA PORTUGUESA VII, pág 537).

Figura 11. Formas tautoméricas da nitrofurazona.



Fonte: Ryan *et al.* (2011).

Os derivados nitrofurânicos nitroheterocíclicos são utilizados desde 1945 como quimioterápicos com atividade antimicrobiana (IARC, 2009). Estes derivados

são sintetizados a partir do furano com substituições na estrutura química no sentido de ampliar o espectro de ação contra microorganismos Gram-positivos e Gram-negativos (incluindo espécies de *Salmonelas*), micoplasmas, clamídeas, protozoários (*Coccídeas*, *Trichomonas*, *Histomonas*) e fungos (OPH, 2010; PRAXEDES, 2012). Dentre estes compostos, a nitrofurazona, a furazolidona e a nitrofurantoína têm sido utilizados na terapêutica de infecções bacterianas há mais de 50 anos, sendo que a NTZ é usada, principalmente, para tratamentos tópicos em queimaduras e infecções da pele.

Guerra *et al.* (2005) afirmaram que hidrazonas, em geral, ainda possuem diversas atividades biológicas, como antiinflamatória, antitrombótica e analgésica. Os compostos do tipo nitrofurfural hidrazona têm apresentado atividade antiparasitária e antimicrobiana *in vivo* e as hidrazidas e seus complexos podem atuar como agentes fungicidas e antibacterianos. Praxedes (2012) relata ainda que derivados nitrofurânicos favorecem a imunidade natural, não são tóxicos, não se acumulam nos tecidos e possuem atividade em presença de pus, sangue e tecido necrosado.

Em relação aos aspectos relativos ao desenvolvimento de resistência bacteriana aos nitrofuranos *in vivo* demonstrou-se que microorganismos podem desenvolver resistência lentamente e em grau limitado, se comparada à magnitude observada com outros anti-infecciosos, tais como as penicilinas e cefalosporinas (OPH, 2010; PRAXEDES, 2012).

A NTZ apresenta atividade antibacteriana de largo espectro de ação demonstrando ser útil em tratamento de feridas e dermatoses causadas por microorganismos gram-positivos e gram-negativos. Nos microorganismos aeróbios, apresenta um mecanismo de ação que, segundo Praxedes (2012), Race (2005) e Guerra *et al.* (2005) se deve à ativação do fármaco por redução do radical nitro (NO_2) na posição 5 do anel furano e à produção de hidroxilamina (RYAN *et al.*, 2011) como metabolito que em combinação com a oxidação do grupo nitroso inibe a tradução genética em bactérias anaeróbias, inibe o processo ribossômico do RNAm e promove ação citotóxica ou mutagênica.

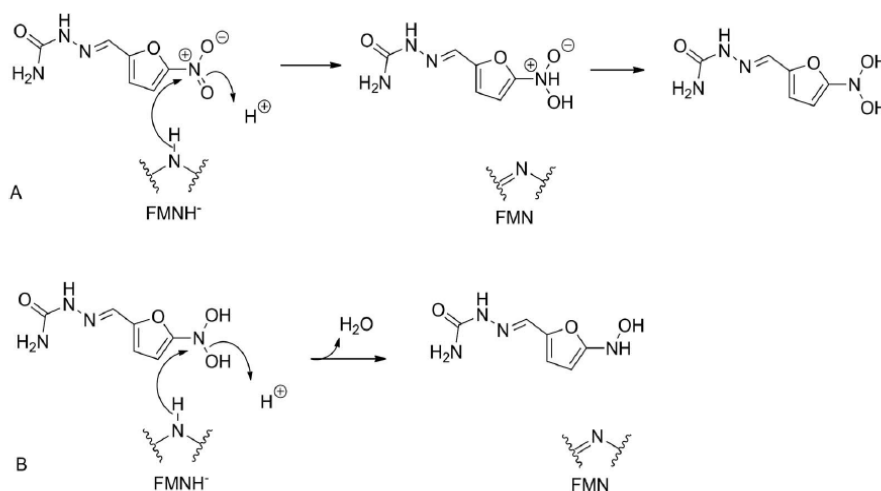
Nos microorganismos aeróbios, o nitro radical aniônico gerado pela redução enzimática interage com o oxigênio presente no meio formando o radical O_2^- . Este radical sofre conversão enzimática na formação de peróxido de hidrogênio, radical

oxidante que destrutura membranas biológicas, liberando espécies reativas que são tóxicas para as células bacterianas e parasitárias (PAULA *et al.*, 2009).

Esta reação de ativação do grupamento nitro, a partir da ação de nitroredutases, é dependente de uma flavoproteína (piruvato flavodoxina azoredutase - FMN, figura 12) presente nas bactérias sensíveis não mutadas, tornando a NTZ um composto capaz de danificar a célula bacteriana.

A atividade antibacteriana de amplo espectro resulta também, em interferências nas fases precoces do ciclo de Krebs, inibindo a formação anaeróbica da acetil-coenzima A, do piruvato ao oxalato e bloqueando o metabolismo glicídico das células bacterianas (DIOGO-FILHO *et al.*, 2004; PRAXEDES, 2012).

Figura 12. Mecanismo de redução da nitrofurazona (NTZ): (A) primeira etapa da redução da NTZ, (B) segunda etapa da redução da NTZ, resultando em produção de hidroxilamina.



Fonte: Ryan *et al.* (2011).

A nitrofurazona é utilizada em formas tópicas de administração de antimicrobianos, como cremes, géis e pomadas no tratamento de feridas infectadas produzidas por traumatismo, queimadura ou intervenção cirúrgica (TUBINO *et al.*, 2005; USP XXVIII, 2005; LUCA *et al.*, 2010). A NTZ também é eficaz no tratamento das feridas infectadas por bactérias patogenicamente significantes, tais como *Staphylococcus aureus* - incluindo espécies de MRSA (*Staphylococcus aureus* metecilino resistente) e estreptococos (RUMACK, 2002; BRONDANI *et al.*, 2008; GRILLO *et al.*, 2008). A atividade NTZ também favorece a cicatrização (LUCA *et al.*, 2010).

As características físico-químicas e propriedades organolépticas da nitrofurazona incluem a cor amarelo-limão e a ausência de sabor e odor, bem como fotossensibilidade. Este comportamento fotoquímico ainda não está totalmente esclarecido, pois os estudos de estabilidade já produzidos focalizaram os produtos de degradação (subprodutos como 5-nitro-2-furaldeído e hidrazona do 5-nitro-2-furaldeído), mas não os passos da sequência de degradação. A sequência de degradação depende de um complexo caminho através das características estruturais e em condições experimentais da cinética de produção destes resíduos correlacionados. Sabe-se, contudo, que esta fotodegradação pode ser incrementada pelo pH do meio, comprimento de onda da radiação luminosa, presença de surfactantes e íons metálicos (LUCA *et al.*, 2010).

Para avaliação da atividade de antimicrobianos, comumente são indicados os testes *in vitro*, através de testes de sensibilidade, que são indicados para quaisquer microorganismos responsáveis por processos infecciosos que exijam terapia antimicrobiana. Contudo, esses testes são utilizados com maior frequência, quando o microorganismo causador pertence a uma espécie com histórico de resistência aos agentes antimicrobianos. Diversos métodos *in vitro* podem ser utilizados para avaliar a sensibilidade dessas bactérias aos agentes antimicrobianos e o método de disco-difusão em ágar é preconizado pelo NCCLS (2003), ratificado pelo CLSI (2011).

O método de disco-difusão foi idealizado por Bauer *et al.* (1966), e desde então é um dos métodos mais utilizados para avaliação de sensibilidade a antimicrobianos. O princípio deste método baseia-se na difusão, através do agar, de um antimicrobiano impregnado em um disco de papel-filtro. A difusão do antimicrobiano leva à formação de um halo de inibição do crescimento bacteriano, cujo diâmetro é inversamente proporcional à concentração inibitória mínima (MIC) (JORGENSEN, TURNIDGE, WASHINGTON, 1999). Esse método é qualitativo, ou seja, permite classificar a amostra bacteriana em sensível (S), intermediária (I) ou resistente (R) ao antimicrobiano (CLSI, 2011).

3 OBJETIVOS

3.1 Objetivo geral

Desenvolver e caracterizar hidrogel de PVA usando glutaraldeído como agente reticulante, e com incorporação de nitrofurazona a 0,2% para aplicação tópica.

3.2 Objetivos específicos

- Avaliar o teor de nitrofurazona (NTZ) no hidrogel reticulado com glutaraldeído pelo método químico.
- Avaliar a capacidade de intumescimento do hidrogel.
- Avaliar as características do estado sólido do hidrogel por meio de análises térmicas e microscopia eletrônica de varredura.
- Avaliar, *in vitro*, o perfil de liberação da NTZ.
- Determinar, *in vitro*, a atividade antimicrobiana da NTZ liberada do hidrogel.

4 PARTE EXPERIMENTAL

4.1 Material

Reagentes

Os reagentes utilizados no preparo de soluções eram de grau PA e a água purificada. Especificamente empregou-se:

- PVA 98,4% hidrolisado e massa molar entre 146000-186000 g/mol (Vetec);
- Glutaraldeído a 25% v/v (Sigma);
- Nitrofurazona, C.A.S. 59-87-0, fórmula $C_6H_6N_4O_4$, com teor da base anidra igual a 97,3%, de origem chinesa, foi gentilmente cedida pela empresa Henrifarma Produtos Químicos e Farmacêuticos Ltda.

Microrganismos

As cepas de microrganismos utilizados foram cedidas pelo Laboratório de Microbiologia do UBM – Centro Universitário de Barra Mansa, sendo:

- Cepa de *Escherichia coli* ATCC 25922 (beta-lactamase negativa);
- Cepa de *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853;
- Cepa de *Staphylococcus aureus* ATCC 250923 (suscetível à oxacilina e penicilina).

Meios de Cultura

Os meios de cultura empregados foram:

- ágar Müeller-Hinton (Oxoid, Basingstoke, Inglaterra);
- ágar MacConkey (Oxoid, Basingstoke, Inglaterra);
- ágar sangue (Oxoid, Basingstoke, Inglaterra), suplementado com 5% de sangue desfibrinado de carneiro no momento do preparo;
- ágar trípico de soja (Oxoid, Basingstoke, Inglaterra).
-

Disco de antimicrobiano

O disco comercial de nitrofurazona utilizado como referência foi da marca Sensifar, com 300 µg do fármaco.

4.2 Equipamentos

- Agitador mecânico termostatzado de bancada Fisaton modelo 78HW-1
- Balança analítica Tecnal modelo SHI-AUY-220.
- Banho de ultrasom termostatzado Unique modelo Ultra Cleaner
- Espectrofotômetro UV-Visível Hach Lange modelo DR 5000 100-1100 nm
- Espectrofotômetro Biospectro SP-220 com faixa de leitura de 200-1000 nm
- Estufa para secagem e esterilização Fanen modelo 515-A
- Estufa microbiológica Fanen modelo 515
- Freezer Brastemp Clean modelo BRM35B com capacidade de congelamento a - 20°C.
- Capela de Fluxo Laminar Unidirecional marca Quimis modelo Q216F20M
- Microscópio de Varredura Eletrônica marca JEOL modelo JSM-63660
- Microscópio óptico Zeiss modelo Axiostar plus
- Cronômetro digital Sports Time modelo Unlock
- Peagômetro digital Adwa modelo AD1030
- Espectrofotômetro de Infravermelho Illuminat modelo RII Smiths
- Analisador de umidade por infravermelho GEHAKA modelo IV 2000
- Aparelho TGA TA Instruments modelo 2050
- Aparelho de DSC TA Instruments modelo MDSC 2910
- Texturômetro TA modelo XT2 (com o conjunto de teste para mucoadesão e aquecedor)

4.3 MÉTODOS

4.3.1 Preparação da formulação

4.3.1.1 Preparação da dispersão aquosa de PVA a 10% m/v, reticulação e moldagem dos filmes

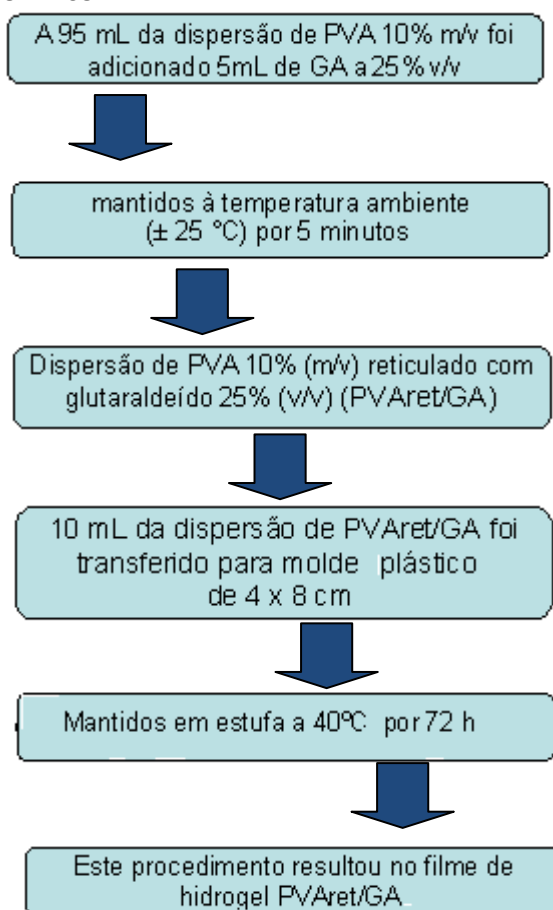
A primeira etapa na formulação do hidrogel consistiu na preparação da dispersão aquosa de PVA a 10% m/v.

A dispersão de PVA foi preparada em erlenmeyer de 250 mL, na concentração de 10% (m/v) de PVA 98,4% hidrolisado e massa molar entre 146000-

186000 g/mol, por adição lenta de 100 mL de água purificada, à temperatura ambiente ($\pm 25^{\circ}\text{C}$). Em seguida, a dispersão foi mantida sobre agitador mecânico termostatzado de bancada à temperatura de $80 \pm 5^{\circ}\text{C}$. A seguir, a dispersão foi submetida a 30 minutos em banho de ultrasson termostatzado a 40°C , para eliminação de eventuais bolhas de ar remanescentes da agitação mecânica. Após este período, a amostra foi mantida em repouso, até o equilíbrio com a temperatura do ambiente ($\pm 25^{\circ}\text{C}$).

A seguir realizou-se a reação do hidrogel de PVA com solução aquosa de glutaraldeído (GA) a 25 % (v/v), para a formação da dispersão reticulada PVArete/GA, conforme figura 13. Conforme descrito por Sadahira (2007), o pH da dispersão de PVA foi ajustado para a $6,00 \pm 0,05$ com HCl 0,5 M. Este procedimento objetivou produzir filme de hidrogel reticulado para avaliação do glutaraldeído como agente reticulante. A evaporação total do solvente, sob incubação na estufa a 72°C , foi atribuída ao hidrogel a partir da pesagem, com manutenção do peso seco.

Figura 13. Fluxograma das etapas de preparação da dispersão aquosa de PVA a 10% m/v, reticulação e moldagem dos filmes.

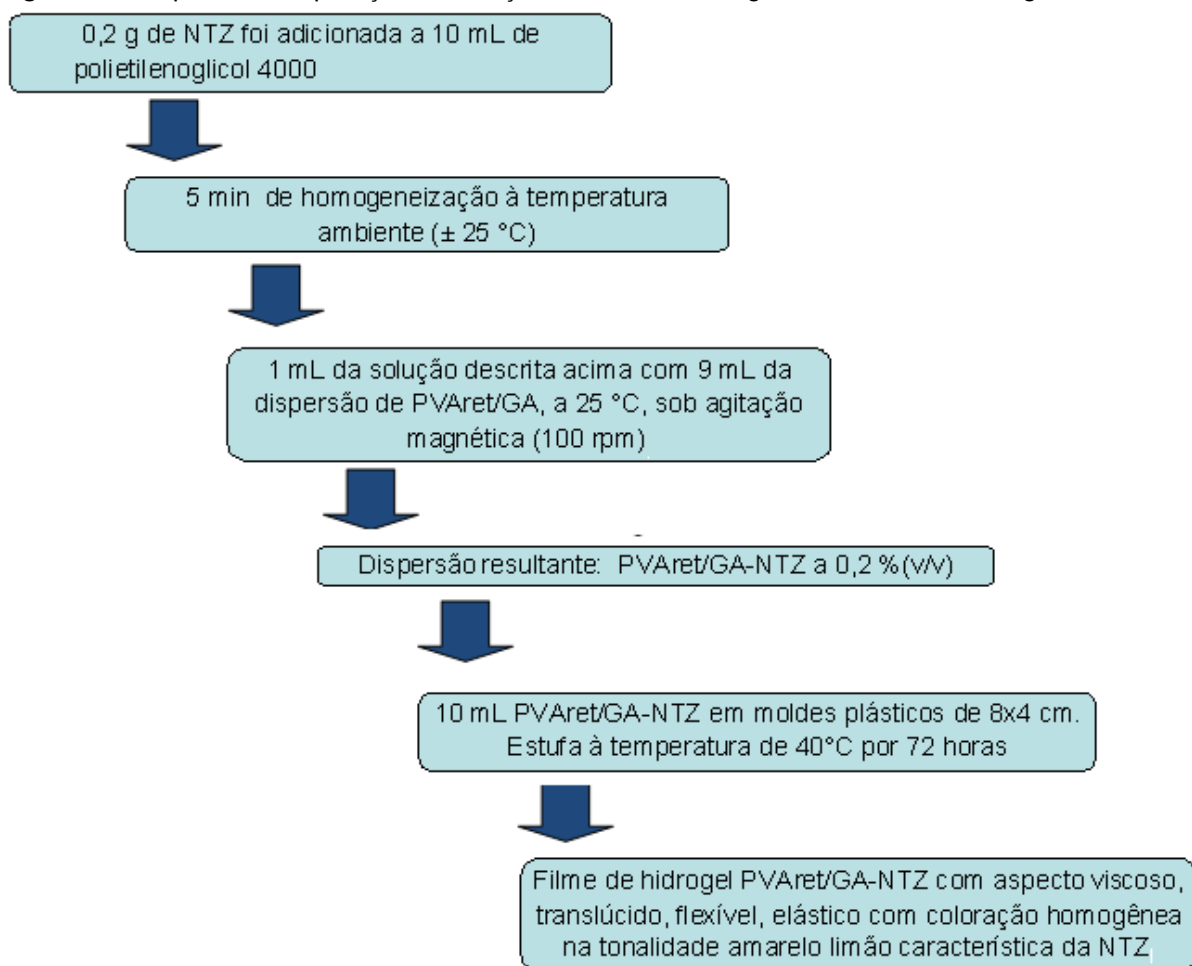


Fonte: elaboração própria.

4.3.1.2 Preparo e incorporação da solução de NTZ ao hidrogel PVAre/TA e moldagem dos filmes

Foi preparada a solução de nitrofurazona a 0,2% (m/v) em polietilenoglicol e incorporada ao hidrogel de PVAre/TA, formando o hidrogel PVAre/TA-NTZ, conforme figura 14.

Figura 14. Preparo e incorporação da solução de NTZ ao hidrogel PVAre/TA e moldagem dos filmes



Fonte: elaboração própria

O produto final (após secagem) apresentou massa de cerca de 10 gramas com concentração de 0,02 gramas de NTZ obtendo, deste modo, um hidrogel com 0,2 % (m/m) e concentração semelhante à pomada e solução tópica de Furacin®, a forma comercial da nitrofurazona referência de mercado, segundo BRASIL (2009). Os filmes produzidos foram mantidos ao abrigo da luz.

4.3.2 Avaliação da capacidade de liberação do ativo a partir do hidrogel PVAreT/GA-NTZ

A capacidade de liberação do ativo pelo hidrogel foi avaliada pela determinação do perfil de intumescimento e dosagem espectrofotométrica do fármaco liberado.

4.3.2.1 Avaliação do perfil de intumescimento do filme

O perfil de intumescimento do filme de hidrogel de PVAreT/GA foi determinado segundo metodologia utilizada por Amaral (2009).

As amostras utilizadas (triplicata) foram mantidas ao abrigo da luz, para preservar a nitrofurazona da degradação e foram mantidas em estufa a 60 °C e pesadas de hora em hora até peso constante de $10 \pm 0,5$ gramas. O período para se chegar a este peso a partir da evaporação do solvente foi de ± 4 horas. Este peso representa a massa das amostras tomadas como M_0 na equação abaixo. Em seguida, com o auxílio de uma pinça, cada amostra da triplicata foi colocada em balão volumétrico individual de 250 mL com 50 mL de tampão fosfato salina (PBS) 0,1 M, pH=6,00 $\pm$ 0,05 e mantidas à temperatura de $37 \pm 0,5$ °C, em estufa. A cada 2 horas a massa dos filmes de hidrogel foi determinada em balança analítica para verificação do ganho de peso pelo intumescimento resultante da incorporação de tampão no hidrogel, considerado a M_t na equação da ASTM D 570, descrita por Amaral (2009), para avaliação do grau de intumescimento.

$$\text{Grau de intumescimento} = [(M_t - M_0) \div M_0] \times 100$$

Onde: M_t representa a massa da amostra intumescida no tempo t ,
 M_0 à massa inicial da amostra seca.

4.3.3 Teste de Liberação *in vitro* de NTZ do Hidrogel de PVAreT/GA-NTZ, por espectrofotometria em UV.

O teste de liberação *in vitro* seguiu a metodologia descrita no trabalho de Murphy *et al.* (2011), sendo determinado por espectrofotometria em UV, a 375 nm (pico de absorção máximo da NTZ, conforme Tubino *et al.* (2010)).

Para comprovação da adequação do método espectrofotométrico ao objetivo pretendido, verificaram-se os parâmetros analíticos precisão, exatidão, limite de quantificação, limite de detecção (ANVISA, 2003).

Três amostras do hidrogel foram secas previamente em estufa à temperatura de 60°C até peso constante de $10 \pm 0,5$ g, o que ocorreu em 2 h de incubação. Em seguida, 3 amostras foram colocadas em 3 balões volumétricos individuais e imersas cada uma em 50 mL de tampão fosfato salina (PBS) 0,1 M, no pH=6,00±0,05 e mantidas em estufa a 37±0,5°C, com os balões devidamente tampados para evitar perda de massa por evaporação e protegidos da luz direta, para evitar fotodegradação da NTZ.

A seguir preparou-se a curva analítica para dosagem do teor de NTZ liberada a partir dos hidrogéis empregando-se soluções a 2; 4; 6; 8 e 10×10^{-3} g.L⁻¹ de NTZ em solução aquosa de propilenoglicol (10%), com leitura em 375 nm.

A concentração da NTZ liberada dos hidrogéis foi determinada após incubação em tampão fosfato salina (PBS) 0,1 M. A cada 2 horas foi retirado todo o volume de 50 mL de tampão PBS de cada balão e reservados em frascos âmbar ou protegidos da luz por papel alumínio, constituindo as amostras a serem analisadas, em triplicata. Utilizou-se água como branco, uma vez que o volume de propilenoglicol empregado no preparo das amostras foi proporcionalmente menor. Após cada retirada de amostra, novo volume de 50 mL de PBS era reintroduzido em cada balão e o procedimento se repetiu até as 14 horas de avaliação.

4.3.4 Avaliação da atividade antimicrobiana a partir da liberação da NTZ em meio de cultura, pelo método de disco-difusão

A liberação da NTZ do hidrogel também foi determinada por método microbiológico através do teste de sensibilidade a antimicrobianos, pela técnica de disco-difusão, método descrito por Bauer *et al.*(1966) e Jorgensen, Turnidge e Washington (1999) bem como segundo o padrão do Comitê Nacional de Padrões Clínicos Laboratoriais (CLSI, 2011).

O ensaio foi realizado em triplicata para cada cepa ATCC. Todos os procedimentos envolvidos, tais como, manuseio de amostras de hidrogel, de materiais e insumos foram executados em capela de fluxo laminar unidirecional como medida de segurança microbiológica. Todos os materiais e insumos utilizados eram estéreis. A realização do teste envolveu as etapas discriminadas abaixo.

Manutenção das cepas padrão

As cepas de *E. coli* ATCC 25922 e *S. aureus* ATCC 25923 foram inoculadas em caldo TSB (caldo tríptico de soja) acrescido de 15% de glicerol à temperatura de - 70°C. A cepa de *P. aeruginosa* ATCC 27853 foi mantida em água purificada estéril, à temperatura ambiente, em conformidade com as orientações do padrão interno de qualidade e segurança microbiológica do laboratório

Preparo das placas e inoculação

As placas de meios de cultura e os discos de antimicrobiano comercial foram preparadas e manuseadas conforme orientações dos fabricantes e instruções do CLSI (2011).

As cepas ATCC de *Escherichia coli* e de *Pseudomonas aeruginosa* foram semeadas em triplicata no meio seletivo ágar MacConkey e em meio não-seletivo ágar sangue. A cepa de *Staphylococcus aureus* foi semeada em triplicata no meio não-seletivo ágar sangue e incubada a 37°C por 24h, em estufa bacteriológica. Após esta incubação, com auxílio de uma alça bacteriológica, foram colhidas algumas colônias bacterianas de cada cepa, com a mesma morfologia macroscópica da placa de cultura fresca. As colônias foram suspendidas com 5 mL de caldo Müeller-Hinton, a fim de se obter uma turvação correspondente a 0,5 da escala de McFarland, conforme avaliação espectrofotométrica utilizando o espectrofotômetro Biospectro modelo SP-220, a 625 nm.

Após a homogeneização do inóculo, foi introduzido um *swab* estéril dentro de cada tubo, e em seguida este foi comprimido contra a parede do tubo para a remoção do excesso de meio. A inoculação foi feita na superfície do ágar Müeller-Hinton em forma de estrias em três direções na placa de Petri. Após cada estria efetuada foram deixadas sobre a bancada por cinco minutos, à temperatura

ambiente (25 ± 1 °C), para permitir que o excesso de umidade da superfície do ágar fosse absorvido.

Aplicação dos discos e leitura dos halos de inibição

Como padrão de comparação da atividade antimicrobiana do fármaco liberado nos respectivos meios de cultura, foi utilizado disco comercial com 300 µg de nitrofurazona da marca Sensifar®. O disco comercial de NTZ foi retirado do freezer à temperatura de -20°C, com antecedência prévia de uma hora, e deixado também em temperatura ambiente (± 25 °C) e a obtenção do disco de hidrogel de PVAreT/GA-NTZ foi feita por corte com bisturi estéril, com diâmetro de 7 mm, semelhante ao disco comercial.

As aplicações do disco comercial e da amostra do hidrogel nas placas de Petri foram feitas com auxílio de uma pinça estéril para evitar contaminação. Os discos foram pressionados suavemente para aderir à superfície do ágar, mantendo-os à distância mínima de 30 mm entre um disco e outro (centro a centro dos discos) e de 15 mm da margem da placa, impedindo a superposição dos halos de inibição.

Após 24 horas de incubação em aerobiose e a $37 \pm 0,5$ °C, as placas foram examinadas para verificar o diâmetro (mm) dos halos de inibição. A leitura foi feita por inspeção visual e com o auxílio de um paquímetro utilizando fonte de luz refletida para iluminar as placas (em posição invertida) sobre um fundo preto e opaco.

4.3.5 Caracterização físico-química do hidrogel

4.3.5.1 Microscopia Eletrônica de Varredura

A superfície do filme contendo nitrofurazona foi observada em microscópio eletrônico de varredura, marca JEOL, modelo JSM-63660. Amostras do filme foram recobertas com ouro coloidal sob vácuo. A seguir, a amostra foi colocada na câmara de microscopia, sendo obtidas fotomicrografias utilizando feixes de elétrons de 10 keV.

4.3.5.2 Análise de Umidade por Infravermelho

Na determinação de umidade foi empregado Analisador de Umidade por Infravermelho - IV GEHAKA modelo 2000. O aparelho é dotado de temporizador programável, auto calibração e com ajuste da temperatura entre 50 a 200°C. A faixa da medida de umidade é de 0,01 a 100%.

4.3.5.3 Análises Térmicas (TGA e DSC)

Para a caracterização termogravimétrica do hidrogel foi feita a análise termogravimétrica (TGA) e análise termogravimétrica de calorimetria diferencial de varredura (DSC).

O aparelho empregado para análise de TGA foi o modelo 2050 da marca TA Instruments. Para a DSC foi empregado o equipamento modelo MDSC 2910 da marca TA Instruments, através de um ciclo de aquecimento com a temperatura variando de 20°C até 200°C, na razão de aquecimento de 10°C. min⁻¹.

4.3.5.4 Análise por Espectrofotometria de Infravermelho

Esta análise foi realizada para caracterizar a presença de grupos químicos específicos de hidrogel adicionado ou isento de NTZ. Os espectros foram obtidos na faixa de número de onda de 4000 a 650 cm⁻¹ durante 64 varreduras, com resolução de 4 cm⁻¹ empregando aparelho Marca Smithis, modelo Illuminat IRII.

4.3.5.5 Força Bioadesiva

Para a determinação da bioadesividade empregou-se o teste de força de tração ("Peel Strength Test"), através do texturômetro modelo TA XT2 Plus Texture Analyser Systems, Stable Micro Systems equipado com o Mucoadhesion Test Rig e probe cilíndrica de 10 mm de diâmetro.

Para a realização do ensaio, inicialmente, o material a ser analisado foi fixado no substrato biológico (disco de mucina) e a probe do equipamento aplicou uma força conhecida por um período fixo (20mm/segundo a 50 kg - faixa máxima). Na segunda fase do teste o probe foi removido de uma maneira controlada do substrato. A resistência à remoção foi tomada como um índice de capacidade de bioadesão do material em teste.

A adesão é descrita como a área negativa presente na curva força $\times$ tempo formada durante a primeira compressão, e representa o trabalho requerido para vencer as forças atrativas entre a superfície da prova e a amostra (SOUZA, 2010).

5. RESULTADOS E DISCUSSÃO

Neste trabalho foi desenvolvido um hidrogel de PVA reticulado com glutaraldeído e com incorporação de nitrofurazona a 0,2% (m/v) para aplicação tópica.

O conhecimento do comportamento das formas farmacêuticas sob os aspectos biodisponibilidade *in vivo* e liberação *in vitro* permite aprimoramento dos produtos e melhor controle quando se fizerem necessárias alterações de escala produtiva e/ou componentes da formulação pós-aprovação do medicamento (FREITAS, 2005). Assim, na tentativa de compreender alguns aspectos da liberação do ativo na forma farmacêutica proposta, foi verificada a capacidade de liberação do ativo através do perfil de intumescimento, da taxa da liberação de NTZ *in vitro* e do teste de sensibilidade microbiana.

Fundamentais também são as avaliações físico-químicas para caracterização e controle de qualidade das formas farmacêuticas desenvolvidas. Neste caso, para a caracterização físico-química foram realizadas análises térmicas (TGA e DSC), umidade por infravermelho, microscopia eletrônica de varredura e bioadesividade. Os resultados obtidos estão apresentados e discutidos na sequência.

5.1. Desenvolvimento do hidrogel

No preparo dos hidrogéis empregou-se 0,2% m/v de nitrofurazona (NTZ), uma vez que a forma farmacêutica tópica referência (Furacin®) apresenta a mesma concentração.

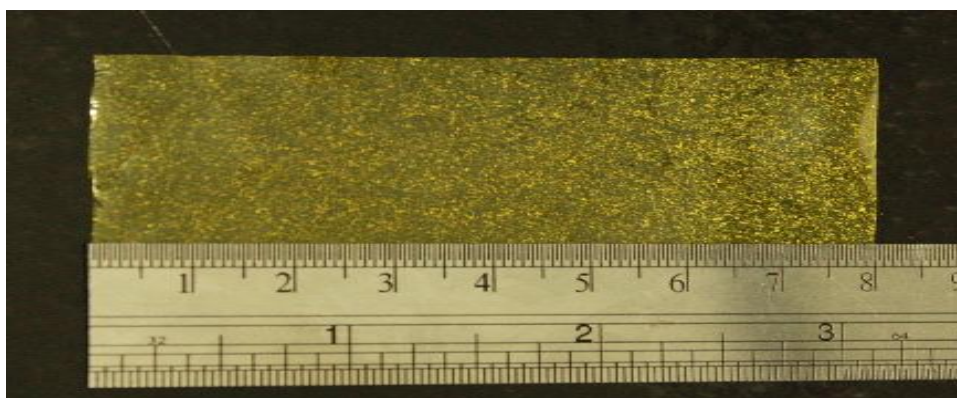
O PVA foi o polímero escolhido por apresentar características de boa e rápida dispersão em água, mucoadesividade, intumescimento, viscosidade aumentada em solução, fácil moldagem e transparência (RAVI, 2007; NAKAGAWA, 2006; OREFICE *et al.*, 2006). Hwang *et al.* (2010) acrescenta as propriedades de biocompatibilidade, atoxicidade, hidrofiliabilidade, habilidade de formar filmes e fibras, resistência química e adsorção de proteínas.

Trabalho recente de Murphy *et al.* (2011) relata que, nesta classe de polímeros, sobretudo aqueles que apresentam alto grau de hidrólise, ocorre liberação lenta dos produtos incorporados, o que favorece o tratamento de feridas tópicas.

Tendo em vista as particularidades dos agentes reticulantes, o glutaraldeído foi selecionado por possibilitar ligações covalentes cruzadas muito estáveis e irreversíveis, permitindo ao material resistir a oscilações no pH e temperatura (termorrígidos) numa faixa ampla de valores, conforme descrito por Oréfice *et al.* (2006).

Os hidrogéis de PVA obtidos apresentaram características de transparência, flexibilidade, ausência de bolhas de ar, ausência de rachaduras e coloração uniforme, doada pela nitrofurazona. A figura 15 apresenta um foto do hidrogel PVAreT/GA-NTZ obtido.

Figura 15. Fotografia do hidrogel de PVAreT/GA-NTZ



Fonte: elaboração própria

5.2 Determinação do Perfil de Intumescimento

O perfil de intumescimento do hidrogel de PVAreT/GA-NTZ foi determinado segundo metodologia utilizada por Amaral *et al.* (2011) que considera a massa de água adquirida pelo hidrogel, sob incubação com tampão PBS conforme descrito na metodologia. Os parâmetros de avaliação do intumescimento estão expressos na tabela 6 e foram calculados utilizando-se a equação 1.

$$\text{Grau de intumescimento} = [(M_t - M_0) \div M_0] \times 100 \quad (\text{equação 1})$$

Onde: M_t representa a massa da amostra intumescida no tempo t ,
 M_0 representa a massa inicial da amostra, antes do intumescida.

Os valores expressos de M_t (g) referem-se às determinações (em triplicata) de massa adquirida, partindo de uma amostra com massa de $10,01 \pm 0,5$ g, conforme descrito em 4.3.2.1.

Tabela 6. Avaliação do intumescimento das amostras de PVAret/GA-NTZ

t(h)	Mt (g)	% de ganho de massa
0	10 ± 0,5	0
2	20 ± 0,5	100 ± 5
4	35 ± 0,7	350 ± 11
6	35 ± 0,6	350 ± 12
8	35 ± 0,6	350 ± 12
10	35 ± 0,6	350 ± 12
12	35 ± 0,6	350 ± 12
14	35 ± 0,6	350 ± 12

M_t = massa da amostra intumescida no tempo t

Obteve-se aumento da massa na ordem de $100 \pm 5\%$, identificada através do aumento de peso, após 2 horas de incubação, mantendo-se em torno de $350 \pm 11\%$ desde a quarta hora de incubação até o final de 14 horas. Estes resultados concordam com aqueles obtidos por Murphy *et al.* (2011) e Amaral *et al.* (2011), sendo um indicativo de que o hidrogel absorve adequadamente o tampão PBS no $\text{pH}=6,00 \pm 0,05$, na temperatura de $37 \pm 0,5^\circ\text{C}$. Neste pH e temperatura, Sadahira (2007) obteve melhor resultado nos testes de intumescimento. Esta capacidade de intumescimento é necessária para confirmar um processo eficaz de polimerização e reticulação.

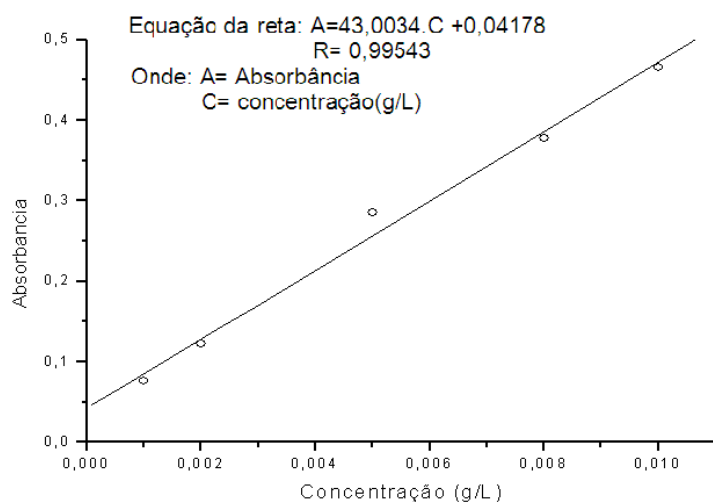
Os fenômenos de polimerização e reticulação são importantes para a matriz polimérica incorporar o princípio ativo e compor um sistema de liberação eficiente (CAMPOS, 2009; AMARAL *et al.*, 2012).

5.3 Avaliação da liberação de nitrofurazona *in vitro*

O teste de liberação *in vitro* foi realizado para verificar-se o comportamento do hidrogel PVAret/GA-NTZ em relação à liberação da NTZ, conforme descrito em Murphy *et al.* (2011).

A metodologia analítica empregada para quantificação da NTZ liberada da forma farmacêutica foi a espectrofotometria em UV, a 375 nm. A partir da análise de diferentes soluções com concentrações conhecidas de NTZ, foi construída a curva de calibração, conforme tabela abaixo (Figura 16).

Figura 16. Curva de calibração para dosagem de nitrofurazona



Fonte: elaboração própria

A curva de calibração indica a relação gráfica entre os valores de absorbância (A) e os de concentração (C) e chega-se à equação da reta, para utilização na mensuração das amostras sob as mesmas condições de medida, conforme Campos (2009) e Zaparoli (2011). Com base no coeficiente de correlação verifica-se a linearidade da reação, conforme a lei de Lambert-Beer (BRASIL, 2003).

Segundo a resolução RE 899/2003 (BRASIL, 2003), os métodos analíticos e bioanalíticos devem apresentar características necessárias à obtenção de resultados com a qualidade exigida, para serem considerados apropriados à finalidade pretendida na quantificação de fármacos e outras substâncias em produtos farmacêuticos, sendo classificados em 4 categorias: I, II, III e IV. Para cada categoria é exigido um ou mais testes paramétricos, tais como: especificidade, linearidade, intervalo, precisão, limite de detecção e quantificação, exatidão e robustez.

De acordo com a referida resolução, a metodologia espectrofotométrica, escolhida para o ensaio, está relacionada com a categoria III, cujos testes tem a finalidade de aferir a performance de dissolução e liberação do ativo, a partir da forma farmacêutica, sendo necessário o teste de precisão no parâmetro repetibilidade. Assim, seguindo as orientações da resolução, conforme a linearidade já tenha sido observada pela equação da reta, os seguintes parâmetros foram calculados: limite de detecção e quantificação, precisão e exatidão do método,

tomando por base os dados obtidos na curva de calibração estabelecida. Os resultados foram:

Limite de detecção: De acordo com a RE899/03 (ANVISA, 2003) é “a menor quantidade do analito presente em uma amostra que pode ser detectado, porém não necessariamente quantificado, sob as condições experimentais estabelecidas”, sendo estabelecido por meio da análise de soluções conhecidas e decrescentes do analito, até o menor nível detectável. O limite de detecção foi calculado pela seguinte

equação: $LD = \frac{DP \times 3}{IC}$ onde:

LD = limite de detecção

DP = desvio padrão

IC = inclinação da curva, dado pela variável *a* da equação da reta.

No caso, conforme equação da reta ($A=43,0034.C + 0,04178$), o IC equivale a 43,0034. Assim, o limite de detecção calculado foi de $6,5 \times 10^{-2} \text{ mg.L}^{-1}$.

Limite de quantificação: Conforme a resolução RE 899/2003 (BRASIL, 2003), “é a menor quantidade do analito em uma amostra que pode ser determinada com precisão e exatidão sob as condições experimentais estabelecidas, sendo estabelecido por meio da análise de soluções contendo concentrações decrescentes do fármaco até o menor nível detectável com precisão e exatidão aceitáveis”. Limite

de quantificação foi calculado pela equação descrita a seguir: $LQ = \frac{DP_{\text{médio}} \times 10}{IC}$

onde:

LQ = limite de quantificação

IC = inclinação da curva, dado pela variável *a* da equação da reta.

DP médio = média dos desvios-padrão

O LQ calculado para o método foi igual $22 \times 10^{-2} \text{ mg.L}^{-1}$

Precisão: É a avaliação da proximidade dos resultados obtidos em série de medidas de uma amostragem múltipla de uma mesma amostra. Também é expressa como desvio padrão relativo (DPR) ou coeficiente de variação (CV%), segundo a equação abaixo.

$DPR = \frac{DP_{\text{médio}}}{CMD} \times 100$ onde:

DPR = desvio padrão relativo
 CMD = concentração média obtida
 DP médio = média dos desvios-padrão

A precisão calculada foi igual a 1,6%. Este valor atende a especificação da RE 899/2003 (BRASIL, 2003), que estabelece como limite aceitável uma precisão de até 5%.

Exatidão: É a proximidade dos resultados obtidos pelo método em estudo em relação ao valor verdadeiro. A exatidão pode ser calculada pela equação abaixo discriminada.

$$Exatidão = \frac{CME}{CT} \times 100 \quad \text{onde:}$$

CME= concentração média experimental
 CT= concentração teórica.

Os valores obtidos na dosagem da NTZ a partir da curva padrão estão descritos na tabela 7. Os resultados indicaram exatidão média de 95,5%, o que pode ser considerado aceitável segundo Ribani et al. (2004).

Tabela 7. Exatidão do método espectrofotométrico

C padrão(g/L)	Abs (medida)	C $A=43,003.C + 0,04178$	Exatidão $\frac{CME}{CT} \times 100$
0,001	0,076	0,0008	80%
0,002	0,122	0,0018	90%
0,005	0,285	0,0056	112%
0,008	0,378	0,0078	97,5%
0,01	0,466	0,0098	98%

Fonte: elaboração própria.

A avaliação da concentração de NTZ liberada do hidrogel foi feita com a leitura da absorbância, em triplicata, de amostras de hidrogel PVAreT/GA-NTZ. Os valores de concentração foram calculados (Tabela 8), utilizando-se a equação da reta descrita como $A=43,0034.C + 0,04178$, onde A= absorbância e C = concentração(g/L). A reta apresentou coeficiente de correlação igual a $R= 0,99543$ o que indicou linearidade, de acordo as determinações da ANVISA (BRASIL, 2003). Obteve-se DP (desvio padrão) de 0,0001 e um CV% (Coeficiente de variação) de 1,46. Estes valores indicaram, ainda, que o método utilizado apresentou baixa dispersão entre os valores obtidos, indicando boa precisão analítica.

Os resultados apontaram uma liberação linear de ativo ao longo das 14 horas de ensaio (figura 17) o que, provavelmente, permitirá o uso hidrogel por longos períodos em curativos. O hidrogel, desta forma, apresentou uma liberação prolongada do fármaco, corroborando os resultados de Amaral (2009) e Murphy et al. (2011).

Tabela 8. Análise espectrofotométrica, C e % de NTZ liberada do hidrogel PVAreT/GA-NTZ

T (horas)	Leitura da Absorbância em 375 nm			Abs média (375 nm) (n=3)	C(g/L) ou mg/mL liberada, acumulada, do hidrogel (A= 43,0034.C + 0,04178)
	Amostra 1	Amostra 2	Amostra 3		
1 - (02 h)	0,340	0,340	0,333	0,338	0,00688
2 - (04 h)	0,328	0,328	0,329	0,328	0,01354
3 - (06 h)	0,325	0,325	0,326	0,325	0,02013
4 - (08 h)	0,325	0,324	0,324	0,324	0,02670
5 - (10 h)	0,319	0,319	0,319	0,319	0,03315
6 - (12 h)	0,309	0,307	0,307	0,308	0,03933
7 - (14h)	0,280	0,281	0,281	0,281	0,04489

Fonte: elaboração própria

As concentrações mensuradas foram consideradas fidedignas por apresentarem-se acima do limite de quantificação do método *LQ*, *LD*, precisão (CV%) aceitável e da exatidão admitidas pela RES 899/2003 (ANVISA, 2003).

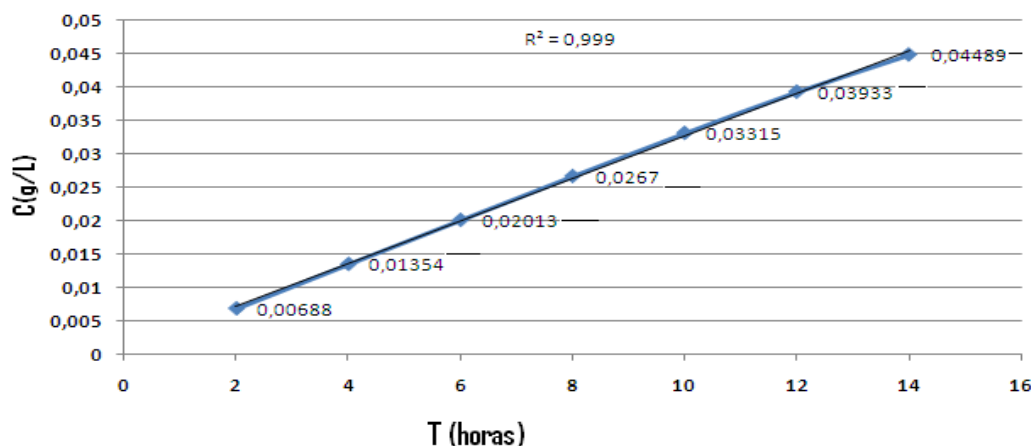
As concentrações de NTZ recuperadas, expressas de forma cumulativa para as amostras 1 a 7 (2 a 14 horas de ensaio) mostraram que o hidrogel liberou de forma contínua o fármaco ao longo do tempo, comportando-se como forma farmacêutica de liberação prolongada.

Segundo trabalhos de Yilmaz (2002), a concentração inibitória mínima (CIM) da NTZ para os patógenos testados é, respectivamente, 32 µg/mL para *Escherichia coli* e 4 µg/mL para *Staphylococcus aureus*. As concentrações calculadas de NTZ liberada em cada alíquota (tabela 8) foram superiores a 5 µg/mL. Assim, a concentração de fármaco liberada está acima da CIM para *Staphylococcus aureus*, um dos principais patógenos bacterianos causador de infecções em feridas tópicas.

Quanto ao perfil de liberação prolongada, nota-se na figura 17 que a liberação de NTZ a partir do hidrogel mostrou-se relativamente homogênea, permitindo concluir que ocorre oferta, em um meio líquido, de concentrações constantes do

fármaco com o passar do tempo, testado em até 14 horas. Este dado é muito importante quando se trata de atividade antimicrobiana, pois oscilações de concentração na biofase podem se correlacionar com a seleção de cepas resistentes. Este dado pode ser confirmado no teste de liberação *in vitro* da NTZ a partir do hidrogel de PVAret/GA-NTZ, nas placas com as cepas bacterianas.

Figura 17: Perfil de liberação de NTZ do hidrogel de PVAret/GA-NTZ, em função do tempo



Fonte: Elaboração própria

5.4 Avaliação da atividade antimicrobiana a partir da liberação da NTZ em meio de cultura, pelo método de disco-difusão.

A atividade da NTZ liberada foi avaliada *in vitro* através do halo de inibição do crescimento bacteriano em cultura microbiológica, com o uso das cepas referência da American Type Culture Collection (ATCC) dos seguintes microorganismos: *Escherichia coli* ATCC 25922, *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853 e *Staphylococcus aureus* ATCC 25923. Estas cepas foram escolhidas por apresentarem estabilidade genética e por serem padronizadas para a monitoração de vários parâmetros principais no controle de qualidade do teste de disco-difusão, conforme preconizado pela ANVISA (2006).

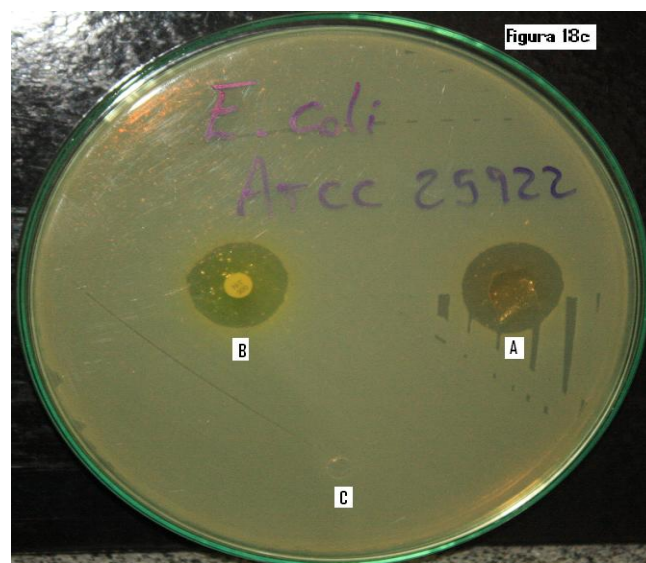
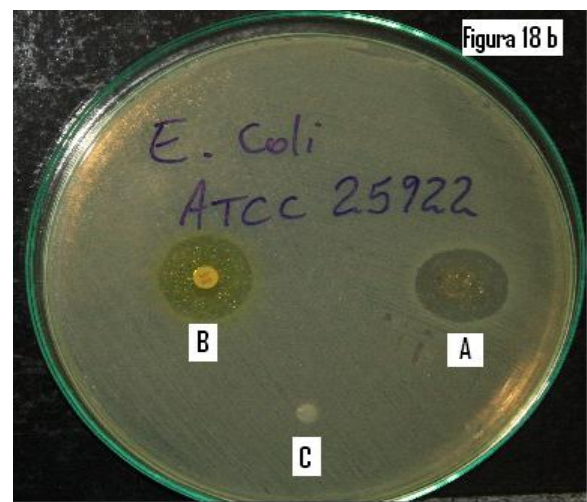
O disco de hidrogel de PVAret/GA-NTZ foi obtido por corte de um fragmento do hidrogel com o mesmo diâmetro do disco comercial.

Com o auxílio de um paquímetro e fonte de luz refletida, foram medidos os halos de inibição de crescimento bacteriano de *E. coli* ATCC 25922. Conforme avaliação das figuras 18a, 18b e 18c. Os resultados mostraram os seguintes diâmetros, que refletem a inibição de crescimento:

- disco de hidrogel PVArete/GA-NTZ: 18a = 20 mm; 18b = 22 mm; 18c = 21mm.
- disco comercial = 18a = 19 mm; 18b = 20 mm; 18c = 19 mm.
- disco de hidrogel de PVArete/GA (sem NTZ) = 0 mm nas placas 18a, 18b e 18c.

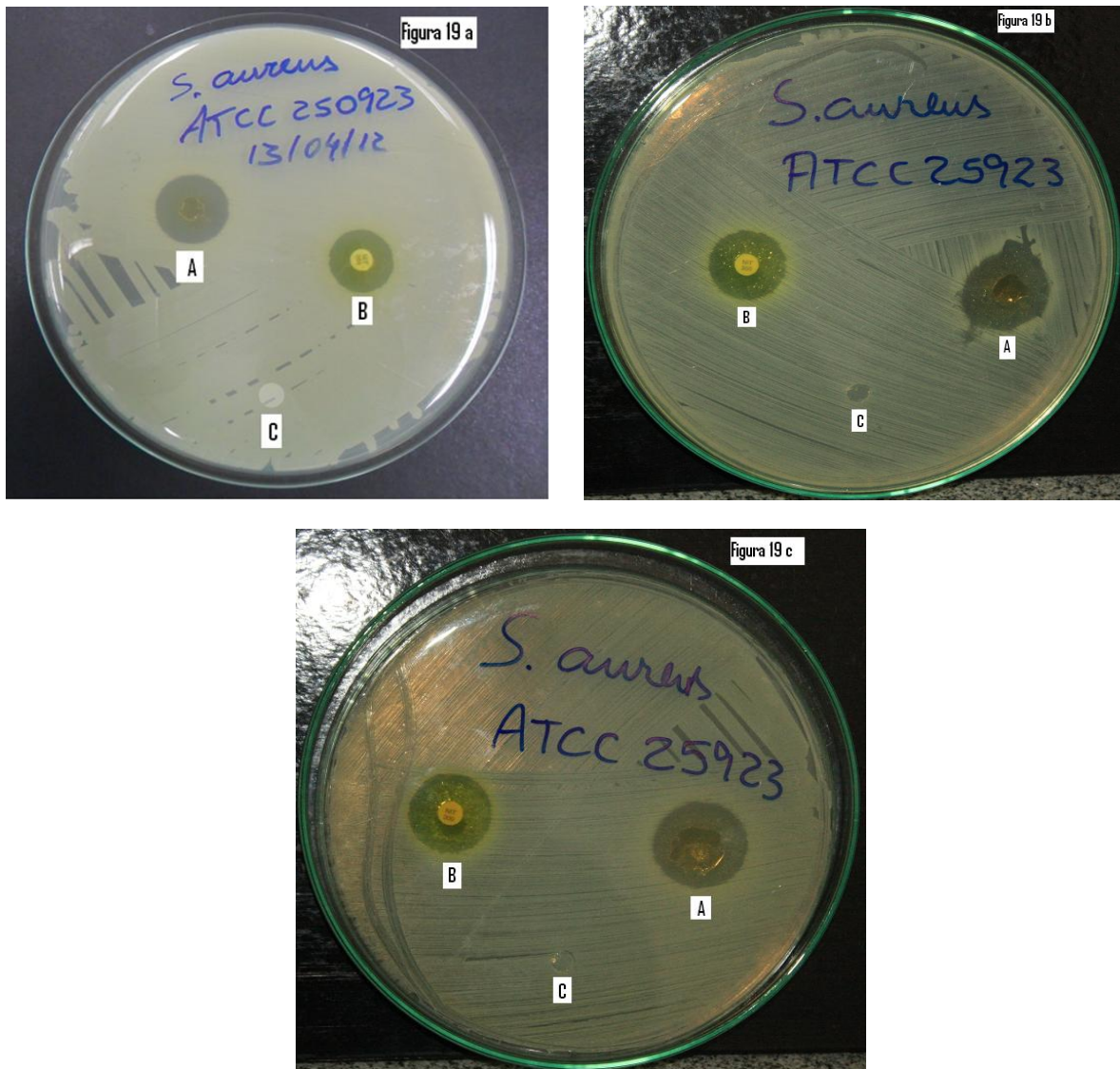
Estes resultados mostraram que o hidrogel de PVA reticulado sem adição de NTZ não apresenta efeito bactericida nem bacteriostático sobre a *E. coli*, evidenciado pelo crescimento bacteriano sobre o disco(18c). Os discos de hidrogel de PVA reticulado incorporados de NTZ (18b) apresentaram efeito bactericida sobre a bactéria equivalente ao disco comercial (18a), considerado como referência.

Figuras 18a, 18b e 18c: Avaliação macroscópica do teste de sensibilidade à NTZ, frente à *E. coli* ATCC 25922:



Legenda: A= disco de hidrogel de PVArete/GA-NTZ, B= disco comercial de NTZ, C= disco de PVArete/GA.

Figuras 19a, 19b e 19c: Avaliação macroscópica do teste de sensibilidade à NTZ, frente a *S. aureus* ATCC 25083



Legenda: A= disco de hidrogel de PVaret/GA-NTZ, B= disco comercial de NTZ, C= disco de PVaret/GA.

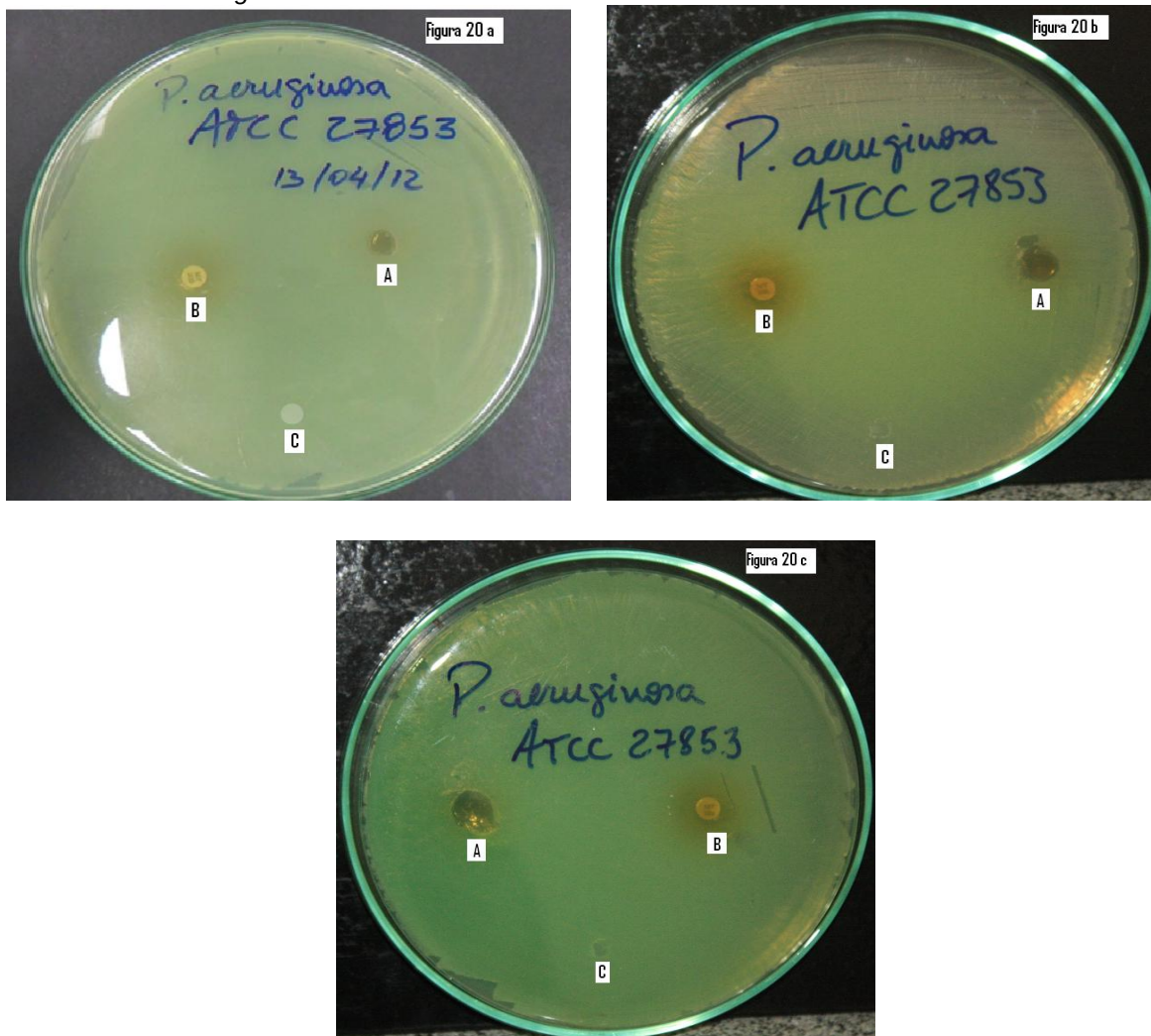
Os mesmos procedimentos para a medida dos halos de inibição observados nas placas de *E.coli*, foram empregados para as medidas nas placas de *Staphylococcus aureus*. Os valores estão abaixo discriminados:

- disco de hidrogel PVaret/GA-NTZ: 19a = 18 mm; 19b = 18 mm; 19c = 21mm.
- disco comercial = 19a = 18 mm; 19b = 18 mm; 19c = 19 mm.
- disco de hidrogel de PVaret/GA (sem NTZ) = 0 mm nas placas 19a, 19b e 19c.

Os resultados mostraram que o hidrogel de PVA reticulado sem adição de NTZ não apresenta efeito bactericida nem bacteriostático sobre a *E. coli*,

evidenciado pelo crescimento bacteriano sobre o disco(18c). Os discos de hidrogel de PVA reticulado incorporados de NTZ (18b) apresentaram efeito bactericida sobre a bactéria equivalente ao disco comercial (18a), considerado como referência.

Figuras 20a, 20b e 20c: Avaliação macroscópica do teste de sensibilidade à NTZ, frente a *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853



Legenda: A=disco de hidrogel de PVAreT/GA-NTZ, B=disco comercial de NTZ, C=disco de PVAreT/GA.

A análise das figuras 20a, 20b e 20c mostraram que a *Pseudomonas aeruginosa* foi resistente aos três discos, conforme não tenham sido observados halos de inibição de crescimento em qualquer dos três discos e em nenhuma das amostras ilustradas acima. Este comportamento reflete a resistência natural desta bactéria à NTZ, confirmando os achados de Johnson, Delavari e Azar (1999) e Yilmaz et. al.(2002).

Os resultados das medidas de inibição de crescimento bacteriano a partir de disco de hidrogel PVAre/NTZ foram de 18 e 21 mm para as culturas de *Escherichia coli* ATCC 25922 e *Staphylococcus aureus* ATCC 25923, respectivamente (figuras 18 e 19). As medidas dos halos de inibição de crescimento gerado pelo disco de hidrogel foram comparadas com os halos de inibição do disco comercial (padrão para comparação de inibição, como controle positivo). Como controle negativo empregou-se o disco de hidrogel PVAre/NTZ (sem a NTZ).

O diâmetro dos halos de inibição referenciais, segundo CLSI M100-S22 (2012), devem ser ≥ 17 mm. Assim, os testes demonstraram que a atividade bactericida da NTZ liberada do hidrogel PVAre/NTZ para *E. coli* e *S. aureus* manteve-se acima do diâmetro mínimo recomendado para a atividade antimicrobiana.

5.5 Caracterização físico-química do hidrogel

5.5.1 Microscopia eletrônica de varredura (MEV)

Pode-se perceber pela figura abaixo (Figura 21) uma morfologia uniforme, provavelmente como cristais pequenos. Esta estrutura facilita a solvatação e a dissolução no contato o solvente. Neste sentido, em contato com a umidade da pele, sobretudo com a descontinuidade de tecido característica das feridas, pode permitir a liberação do ativo nitrofurazona.

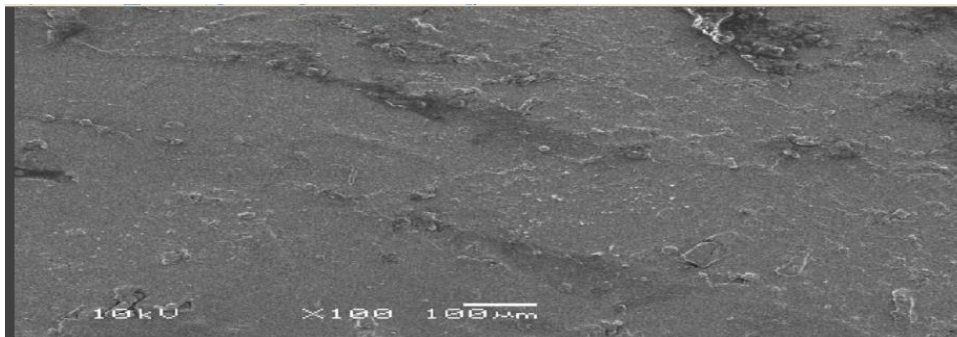


Figura 21. Microfotografia do filme mucoadesivo por microscopia eletrônica de varredura. Microscópio de Varredura Eletrônica JEOL modelo JSM-63660.

5.5.2 Espectroscopia de Infravermelho

A espectroscopia na região do infravermelho foi utilizada para caracterizar a NTZ (figura 22), o hidrogel sem NTZ (figura 23) e hidrogel com NTZ (figura 24). A

tabela 9 indica relações das bandas obtidas por espectrofotometria de Infravermelho com polímero PVA (COSTA JR e MANSUR, 2008).

Tabela 9. Relação de bandas obtidas do PVA por espectrofotometria de infravermelho:

Bandas (cm⁻¹)	Grupos
3550-3200	ν (OH)OH...OH
2937-2870	ν CH
1650-1630	δ (OH)OH...OH
1461-1417	δ (CH)-CH ₂
1366	δ CH- R- CH ₂
1329	δ (OH)-C-OH
1254	ν CH (=CO-C)
1084	ν (C-O)-C-OH
922	δ (CH)-CH ₂
842	ν (C-C)

Fonte: COSTA JR E MANSUR(2008), adaptado.

O espectro da figura 23 obtido do hidrogel de PVArete/GA, pode indicar que houve interação entre PVA e o GA. Comparando-se a banda entre 3550-3200 cm⁻¹ do grupamento (OH)OH...OH da ligação de hidrogênio intermolecular e intramolecular, verifica-se que há redução da intensidade indicando a possível formação das pontes acetais. O PVA apresenta outra banda característica em 2800-2695 cm⁻¹ de CH de aldeído, que sofre interferência após reticulação com glutaraldeído (SADAHIRA, 2007). Outras bandas em 1461-1417 cm⁻¹ do grupamento (CH)-CH₂ e 1366 cm⁻¹ do grupamento CH-R-CH₂ também apresentaram redução de intensidade e podem indicar a ligação com o glutaraldeído.

Comparando-se as figuras 23 e 24 (espectros do hidrogel sem nitrofurazona e com nitrofurazona) não se verifica deslocamentos de picos do espectro do hidrogel com nitrofurazona. O perfil dos espectros foi mantido, o que pode significar que, provavelmente, a nitrofurazona não sofre interação significativa em sua incorporação no hidrogel, sendo apenas carregada por este sistema.

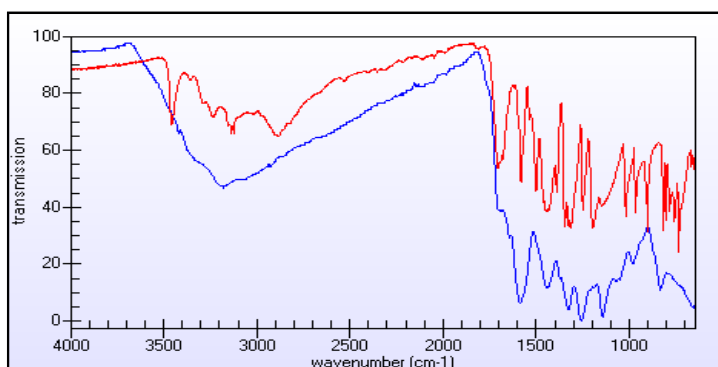


Figura 22. Espectro de infravermelho da nitrofurazona (em vermelho). Espectro comparativo (em azul) de substância do banco de dados (orcein dye) (banco de dados).

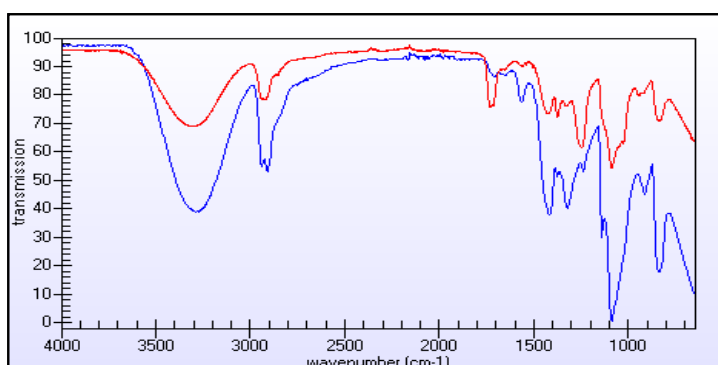


Figura 23. Espectro de infravermelho do hidrogel de PVArêt/GA, sem nitrofurazona (em vermelho). Espectro de PVA hidrolisado (em azul) (banco de dados)

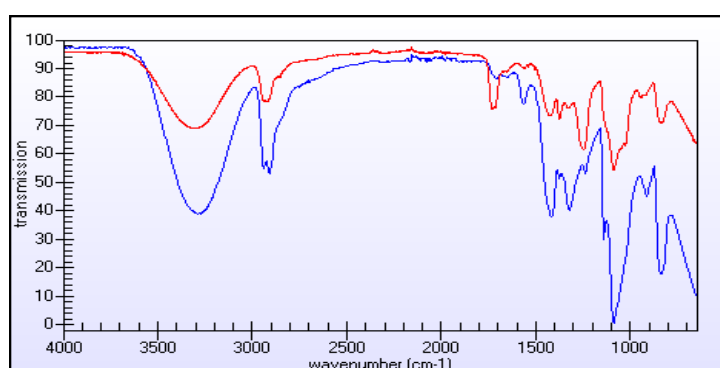


Figura 24. Espectro de infravermelho de hidrogel PVArêt/GA-NTZ (em vermelho). Espectro de PVA hidrolisado (em azul) (banco de dados)

5.5.3 Análise de Umidade por infravermelho

Obteve-se umidade de 18%, após o período de secagem 72 horas a 40 °C. O valor obtido foi próximo o obtido por Tardelli (2011) que foi de 14%, embora os componentes fossem diferentes. Considerando o valor de umidade apresentado, o produto mostra-se com teor promissor para armazenamento.

Relacionando o grau de intumescimento e sua umidade verificou-se que o hidrogel é capaz de hidratar-se em cerca de 95%. Este dado é semelhante aos obtidos por Horn (2008), que desenvolveu hidrogéis de quitosana, xantana e colágeno e apresentou faixa de hidratação entre 99,0 e 93,8%. O produto, neste sentido, mostra boa capacidade de hidratação e ao mesmo tempo, facilidade de armazenamento em função de sua porcentagem de umidade relativamente baixa.

5.5.4 Análises térmicas

As análises térmicas buscam avaliar e entender o comportamento de degradação dos polímeros (BERTOLINI, 2007). A Termogravimetria (TGA) permite verificar a perda de massa em função da temperatura. A Calorimetria Exploratória Diferencial (DSC) permite medir a diferença de energia fornecida à substância e um material inerte em função da temperatura, enquanto a substância e a referência são submetidas a uma programação controlada de temperatura. Toda alteração termodinâmica que ocorrer, exotérmica ou endotérmica, pode ser então mensurada pelo DSC (CIENFUEGOS e VAITSMAN, 2000).

Em estudos envolvendo análises térmicas, foi observado que o PVA mostra duas regiões principais de perda de massa, 220-325°C e 400-425°C (FERNANDES, 2005).

Pela análise da curva de TGA do hidrogel de PVA reticulado com glutaraldeído foi observado comportamento térmico semelhante com 45,30% de perda de massa em 328,4° C e 24,38% de perda de massa em 421,3°C(Figura 25). Já o hidrogel de PVA reticulado com glutaraldeído e adicionado de nitrofurazona, apresentou perda de massa significativa em 144,4°C (24,3%) e em 342,5°C (19,74%) (Figura 26). Isto pode indicar que a adição de nitrofurazona contribui para uma menor estabilidade térmica do filme.

A curva termogravimétrica (TGA) disposta na figura 26 e a tabela 8 apresentam os principais eventos obtidos na curva de TGA do hidrogel com nitrofurazona.

Tabela 10. Principais eventos observados na TGA do hidrogel PVAre/TA-NTZ

Temperatura (°C)	Perda de massa (%)
53,62	6,06
144,41	24,30
342,52	19,74
446,17	1,94
563,79	5,72

Fonte: elaboração própria

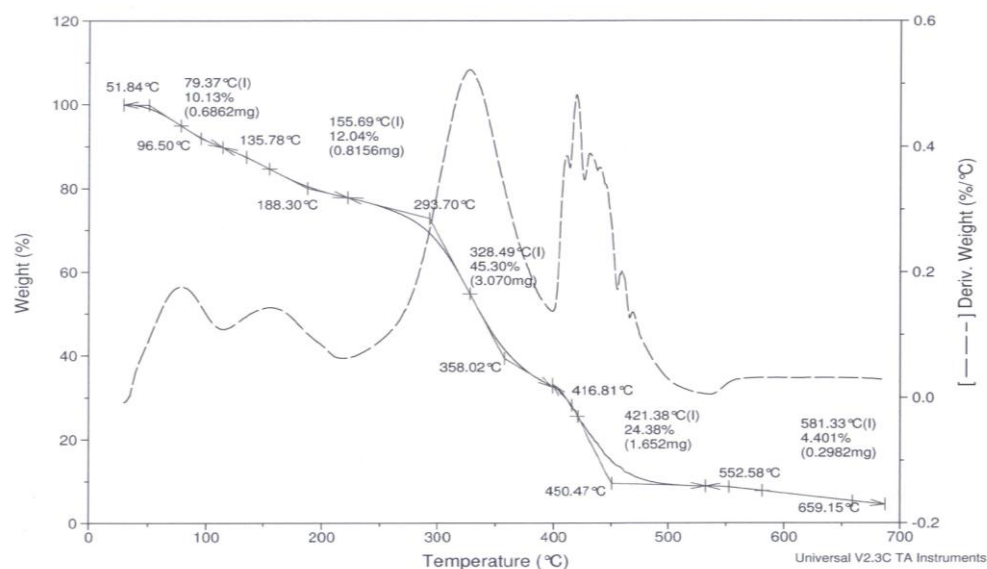


Figura 25. Curva termogravimétrica (TGA) do hidrogel de PVA ret/GA.

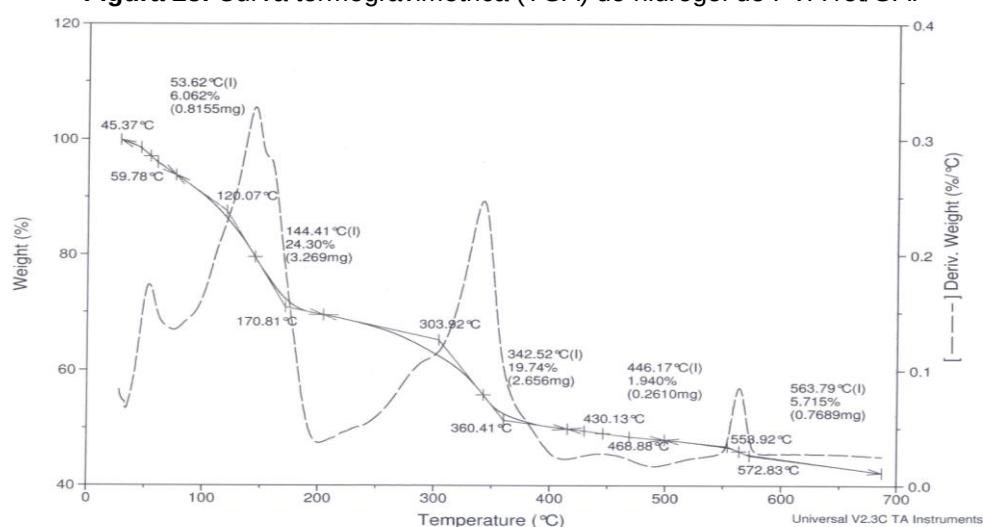


Figura 26. Curva termogravimétrica (TGA) do hidrogel PVAret/GA-NTZ

A curva DSC do hidrogel com nitrofurazona indicou dois eventos endotérmicos (44,56 °C e 89,37 °C), com indicação de fusão das substâncias (Figura 27). O processo de decomposição, indicado por fenômenos exotérmicos inicia-se a partir de 120 °C. Já curva DSC do hidrogel sem nitrofurazona (Figura 28) percebe-se um fenômeno endotérmico em 111,7 °C (fusão das substâncias) e decomposição a partir de 185,5°C. Estas mudanças são um indicativo de que os mecanismos das reações de degradação térmica do hidrogel de PVA reticulado com glutaraldeído são alterados quando a nitrofurazona é incorporada ao filme.

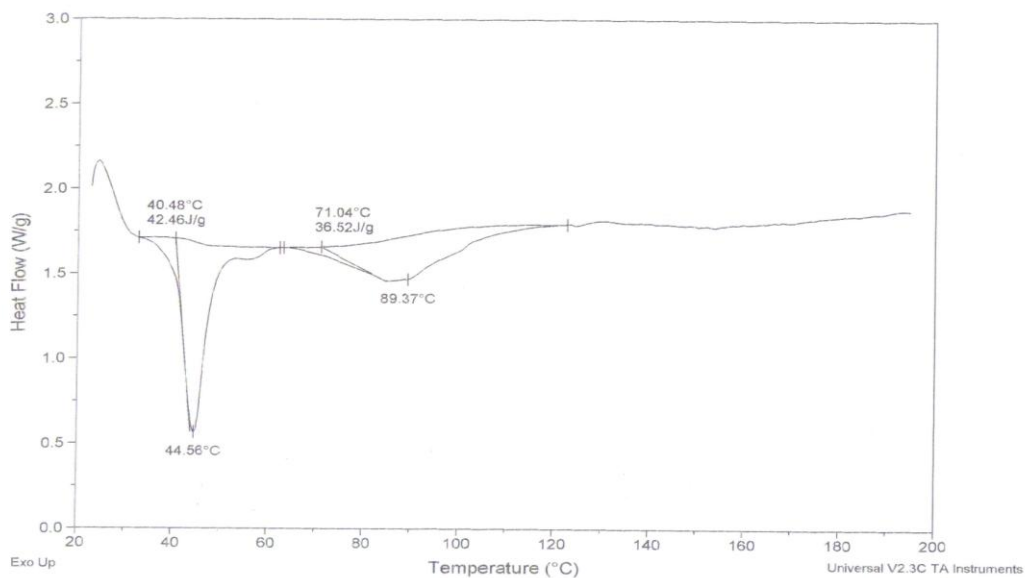


Figura 27. Calorimetria Exploratória Diferencial (DSC) do hidrogel de PVAcet/GA-NTZ

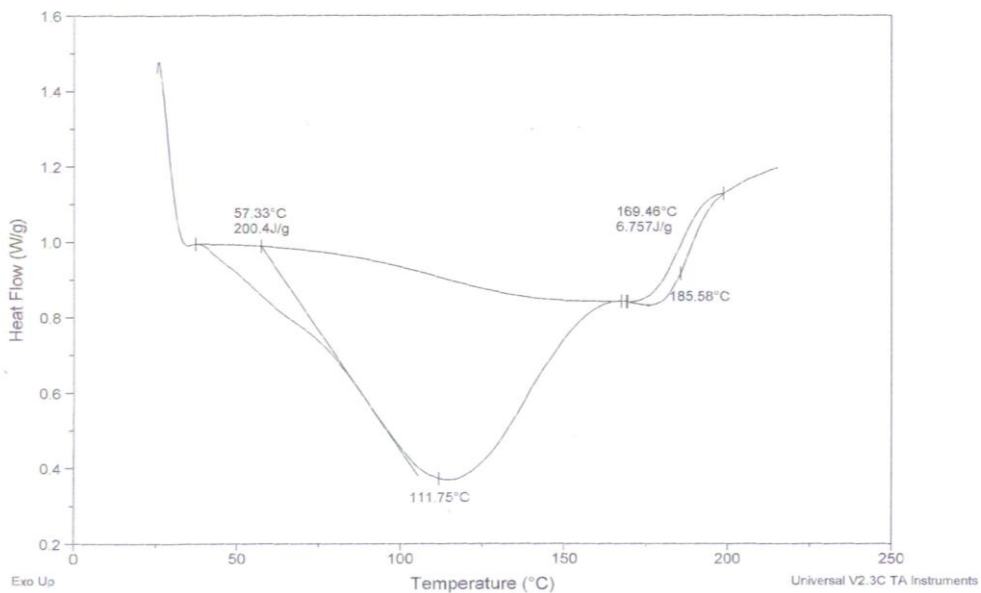


Figura 28. Calorimetria Exploratória Diferencial (DSC) do hidrogel de PVAcet/GA

5.5.5 Força Bioadesiva

Algumas características da matriz poliméricas influem no seu caráter bioadesivo, dentre elas, presença na molécula polimérica de grupos químicos capazes de formar pontes de hidrogênio com o substrato biológico presença no substrato biológico de grupos químicos capazes de formar pontes de hidrogênio com a matriz polimérica, cargas iônicas na superfície tanto da matriz polimérica quanto do substrato biológico, alto peso molecular (e alta flexibilidade) da cadeia polimérica além de valores adequados de tensão superficial que possa induzir a difusão através da camada de tecido epitelial (SOUZA, 2010).

A tabela 9 abaixo apresenta os resultados de bioadesão de amostras de hidrogéis. Pelos resultados observa-se que os a adição de glutaraldeido não alterou significativamente os resultados e propiciou um produto de menor fragilidade.

Tabela 11. Força de adesão (Wad) das amostras de hidrogel PVA ret/GA-NTZ

Amostra	Wad (μ J)
Hidrogel PVAret/GA	1210,33 $\pm$ 152,58
Hidrogel PVAret/GA-NTZ	1025,99 $\pm$ 206,32

6 CONCLUSÃO

Pelos resultados obtidos pode-se concluir que a metodologia para o preparo dos hidrogel foi adequada. O hidrogel desenvolvido apresentou aparência adequada em relação a cor, transparência e flexibilidade. Estas características favorecem a aceitação do produto pelos usuários e, provavelmente, favorece sua aplicação em diferentes locais do corpo humano.

O hidrogel apresentou boas características em relação a liberação do ativo, verificadas através dos ensaios de intumescimento, da taxa de liberação de NTZ *in vitro* e do teste de sensibilidade microbiana, conforme comparação com resultados de diferentes autores. O teste de intumescimento indicou aumento do peso de $100 \pm 5\%$ até $350 \pm 11\%$ sem perda de sua forma original durante 14 horas de ensaio. A nitrofurazona incorporada apresentou atividade antimicrobiana esperada em relação ao seu perfil de sensibilidade. Em relação à taxa de liberação *in vitro*, os resultados foram satisfatórios apontando liberação prolongada do ativo. Estas características podem permitir o uso do hidrogel em curativos por tempo prolongado.

As avaliações físico-químicas realizadas indicaram a obtenção de um produto com características estruturais adequadas. A microscopia eletrônica apresentou um produto com morfologia homogênea. O espectro de infravermelho indicou que a nitrofurazona não se ligou ao polímero de forma a ter alterada sua estrutura, o que poderia reduzir sua atividade antimicrobiana. As análises térmicas indicaram que o produto pode apresenta estabilidade na temperatura de uso pretendida (37°C/ temperatura corpórea).

Pelos resultados obtidos o hidrogel apresentou características promissoras para o emprego em lesões de pele, particularmente para indivíduos com feridas de difícil tratamento como as ulcerações de membros inferiores de portadores de diabetes melitus.

No entanto, para verificar sua efetiva aplicação como uma forma farmacêutica para uso em humanos, são necessários estudos *in vivo* e *in vitro* para avaliar seu real potencial de emprego.

REFERÊNCIAS

AMERICAN SOCIETY FOR TESTING AND MATERIALS – ASTM. Norma ASTM D 570: Standard method for water absorption of plastics. Philadelphia: ASTM; 1998. Disponível em <<http://www.astm.org/Standards/D570.htm>> Acessado Em 20/09/2011.

ALCÂNTARA, M. T. S. et al. Synthesis and characterization of hydrogels composed by different types of poly(vinyl alcohol). In: **Latin American Congress of Artificial Organs and Biomaterials**, 6th, August 17-20, 2010, Gramado, RS.

ALMEIDA, J. S. et al. Hydrogels containing rutin intended for cutaneous administration: efficacy in wound healing in rats. **Drug Development and Industrial Pharmacy**, v. 38, n. 7, p. 792-799, jul. 2012.

ALVES, A. K. Obtenção e controle da morfologia de aluminas sintetizadas por sol-gel. 2005. 104 p. Dissertação (Mestrado em Engenharia de Materiais). Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, 2005.

AMARAL, R.H. et al. Caracterização físico-química e biocompatibilidade in vitro de membranas de hidrogel. In: **Congresso Latino Americano de Órgãos Artificiais e Biomateriais**, 5., 22-25 de junho, 2008, Ouro Preto, MG.

AMARAL, R.H. Estudo da incorporação e liberação de um extrato de algas vermelhas em membranas de hidrogel. Dissertação (Mestrado). 2009, 99 f. Instituto de Pesquisas Energéticas e Nucleares. Universidade de São Paulo, São Paulo. 2009.

ANDREWS, G. P.; LAVERTY, T. P.; JONES, D. S. **Mucoadhesive polymeric platforms for controlled drug delivery**. European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics, v. 71, n.3, p. 505-518, mar. 2009.

ANSEL, H. C.; POPOVICH, N. G.; ALLEN JUNIOR., L.V.. **Farmacotécnica – Formas farmacêuticas & sistemas de liberação de fármacos**. São Paulo: Premier, 2000, 568p.

AOUADA F. A. et al. Correlação entre parâmetros da cinética de intumescimento com características estruturais e hidrofílicas de hidrogéis de poliacrilamida e metilcelulose. **Química Nova**, v. 32, n.6, p.1482-90, 2009.

ASANE, G. S. et al. Polymers for Mucoadhesive Drug Delivery System: A Current Status. **Drug Development and Industrial Pharmacy**, v. 34, n. 11, p.1246-66, 2008. Disponível em <<http://informahealthcare.com/doi/abs/10.1080/03639040802026012>>. Acesso em 21/03/2012.

ATTWOOD, D. **Sistemas dispersos**. In: AULTON, Michael E. et al. **Delineamento de formas farmacêuticas**. 2ª ed. Porto Alegre: Artmed, p. 403-443, 2005.

BARBANTI, S. H. et al. Polímeros bioreabsorvíveis na engenharia de tecidos. **Polímeros: Ciência e Tecnologia**; v.15, n.1, p. 13-21, 2005.

BARCELLOS, I. O. et al. Cinética de liberação de fenobarbitona. **Polímeros: Ciência e Tecnologia**; v. 10, n. 2, p. 110-115, 2000.

BAUER, A.W. et al. Antibiotic susceptibility testing by a standardized single disk method. **American Journal of Clinical Microbiology**; n 45, p. 493-496, 1966.

BERGER, J. *et al.* Structure and interactions in chitosan hydrogels formed by complexation or aggregation for biomedical applications. **European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics**, vol. 57, n. 1, p. 35-52, 2004.

BERTOLINI, A. **Biopolymers Technology**. São Paulo: Editora Cultura Acadêmica, 2007. 208 p.

BRASIL, Agência Nacional de Vigilância Sanitária – ANVISA. Resolução RE 899, de 29 de maio de 2003. Guia para a validação de métodos analíticos e bioanalíticos. **Diário Oficial da União**, Brasília, DF, 02 de junho de 2003.

BRASIL. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. **Guia para validação de métodos analíticos e bioanalíticos**. Disponível em <http://www.anvisa.gov.br/legis/resol/2003/re/899_03re.htm>. Acessado em 20/03/2012.

BRASIL. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Lista “A” de Medicamentos de Referência (PDF), atualizado em 28/07/2009. Disponível em <<http://www.anvisa.gov.br/medicamentos/referencia/index.htm>>, acessado em 20/03/2012.

BRASIL. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. **Controle Interno da Qualidade para Testes de Sensibilidade a Antimicrobianos**. 2006. Disponível em:

<http://www.anvisa.gov.br/servicosade/manuais/manual_testes_antimicrobianos>, acessado em 20/05/12.

BRAZEL, C.S. PEPPAS, N.A. Mechanisms of solute and drug transport in relaxing, swellable, hydrophilic glassy polymers. **Polymers**, v. 40, n. 12, p. 3383-98, 1999.

CAMPOS, F. S. **Desenvolvimento de hidrogéis de dextrano contendo praziquantel**. 2009. 70 f. Dissertação (Mestrado em Ciências Farmacêuticas) – Programa de Pesquisa e Desenvolvimento de Fármacos e Medicamentos), Faculdade de Ciências Farmacêuticas, UNESP, Araraquara, 2009.

CANEVAROLO, S. V. Jr. **Ciência dos Polímeros: um texto básico para tecnólogos e engenheiros**. 2 ed. São Paulo: Artliber, 2006. 280 p.

CARVALHO, F.C. et al. Mucoadhesive drug delivery systems. **Brazilian Journal of Pharmaceutical Sciences**, v. 46, n. 1, p. 1-17, 2010.

CHAPLIN, M. **Hydrocolloids**. London South Bank University, 2006. Disponível em <<http://www.lsbu.ac.uk/water/hydro.html>>. Acesso em: 20 fev. 2011.

CID, Y. P. **Desenvolvimento de sistemas de liberação mucoadesivas para o celecoxibe na quimioprevenção do câncer oral: influência da azona como promotor de penetração**. 2009. 129 f. Dissertação (Mestrado) – UFRJ / Faculdade de Farmácia da Universidade Federal do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro, 2009. Disponível em <http://teses2.ufrj.br/Teses/FF_M/YaraPelusoCid.pdf>. Acesso em: 22 mar. 2012.

CIENFUEGOS, F.; Vaitsman, D. **Análise Instrumental**. Rio de Janeiro: Editora Interciências, 2000, 606p.

CLSI. **Performance Standards for Antimicrobial Susceptibility Testing: Twenty-First Informational Supplement**. CLSI document M100-S21. Wayne, PA: Clinical and Laboratory Standards Institute, 2011.

CORRÊA, N. M. et al. Avaliação do Comportamento Reológico de Diferentes Géis Hidrofílicos. **Revista Brasileira de Ciências Farmacêuticas**; v.41, n.1, p.73-78, 2005.

COSTA JR E. S.; MANSUR, H. S. Preparação e caracterização de blendas de quitosana/poli(álcool vinílico) reticuladas quimicamente com glutaraldeído para aplicação em engenharia de tecido. **Química Nova**, vol. 31, n.6, p. 1460-1466, 2008.

DIOGO-FILHO, A. et al. Avaliação das aderências pós-operatórias em ratos submetidos a peritoniotomia com tela de polipropileno associada à NTZ. **Arquivos de Gastroenterologia**, v.41, n.4, p. 245-249, 2004.

EVANGELISTA F.S. et al. Modificar para criar, a natureza do PVA reticulado: o polímero como biotecnologia para o século XXI. Relatório do projeto final. In: **VIII Simpósio de Bases Experimentais das Ciências Naturais da Universidade Federal do ABC** – 20 e 21 de agosto de 2010. Disponível em: <<http://pt.scribd.com/doc/70079051/polimero-reticulado-Borax-PVA>>. Acesso em: 20 fev. 2012.

FALCÃO, M.L.C. Síntese e caracterização de estruturas porosas de quitosana pela técnica de separação de fase para aplicações biomédicas. 2003, 408 p. Dissertação(Mestrado em Engenharia) - Comissão de Pós-Graduação da Universidade Federal de Itajubá, Itajubá, 2003.

Farmacopéia Portuguesa VII; 7ª ed., **Instituto Nacional da Farmácia e do Medicamento**: Lisboa, 2002 (1-2 CD-ROM).

FAVALLI, P. P. S. Aplicação da hidroxipropilmetilcelulose na síntese de biomateriais para regeneração e engenharia de tecidos e análise de sua toxicidade em cultura de células adiposo-derivadas humanas. 2009. 92 f. Dissertação (Mestrado em Ciências da Saúde) – Pontifícia Universidade Católica do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, 2009.

FERNANDES, D.M. Estudo da estabilidade térmica de blendas de poli(álcool vinílico) /lignina modificada. Dissertação (Mestrado). 2005, 172 f. Centro de Ciências Exatas, Pós-graduação em Química, Universidade Estadual de Maringá, 2005

FIGUEIRAS, A.; CARVALHO, R.; VEIGA, F. Sistemas mucoadesivos de administração de fármacos na cavidade oral: mecanismos de mucoadesão e polímeros mucoadesivos. **Revista Lusófona de Ciências e Tecnologias da Saúde**, v. 2, n. 4, p.216-233, 2007.

FRANCO, D. ; GONCALVES, L. F. Feridas cutâneas: a escolha do curativo adequado. **Revista do Colégio Brasileiro de Cirurgiões**, v.35, n. 3, p. 203-206, 2008.

GENNARO, A. R. **Remington: A ciência e a pratica da farmácia**. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan S.A., 2004. 2208 p.

GOLDSMITH SP. Wound care: combining three classification systems to select dressings. **Home Health Care Management and Practice**, v. 8, n. 6, p. 17-27, 1996.

GONSALVES, A. A. et al: Diferentes estratégias para a reticulação de quitosana. **Química Nova**, v. 34, n. 7, p. 1215-1223, 2011. Disponível em <<http://www.scielo.br/pdf/qn/v34n7/v34n7a21.pdf>>. Acesso em: 20 fev. 2012.

GRILLO, R. et al. Study of the interaction between hydroxymethylnitrofurazone and 2-hydroxypropyl- β -cyclodextrin. **Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis**, v. 47, n. 2, p. 295-302, 2008.

GUERRA W. et al. Síntese e caracterização de novos complexos de platina (II) com ligantes derivados do furano e nitrofurano. **Química Nova**, v. 28, n. 5, p. 809-812, 2005.

GUPTA, P. et. al. Hydrogels: from controlled release to pH-responsive drug delivery. **Drug Discovery Today**; v. 7, n.10, p. 569-579, 2012.

GUPTA, S., GOSWAMI S., SINHA A. A combined effect of freeze-thaw cycles and polymer concentration on the structure and mechanical properties of transparent PVA gels. **Biomedical Materials**, v. 7, n1, p. 1763-1774, 2012.

HAMIDI, M.; AZADI, A.; RAFIEI, P. Hydrogel nanoparticles in drug delivery. **Advanced Drug Delivery Review**; v. 60, n.15, p. 1639-1649, 2008.

HELMKE, CD. Current topical treatments in wound healing: part 2. **International Journal of Pharmaceutical Compounding**, v. 8, n. 5, p. 354-358, 2004

HOFFMAN A.S. Hydrogels for biomedical applications. **Advanced Drug Delivery Reviews**, v. 54, n.1, p.3-112, 2002.

_____. The origins and evolution of controlled drug delivery systems. **Journal of the Controlled Release**; v. 132, n. 3, p.153-156, 2008.

HORN, M.M. Obtenção e caracterização de hidrogéis de quitosana, xantana e colágeno aniônico. Dissertação (Mestrado), 2008, 73 f. Instituto de Química de São Carlos, Universidade de São Paulo, 2008.

HWANG et al. Gentamicin-Loaded Wound Dressing With PVA/Dextran Hydrogel. **AAPS Pharmaceutical Science & Technology**; v. 11, n. 3, p.1083–1089, 2010.

IARC. Nitrofurural (Nitrofurazone). **International Agency for Research on Cancer**; v. 50, p.195, 1990.

ISRAEL, A. Topical gel for the treatment of a refractory leg ulcer; case report. **International Journal of Pharmaceutical Compounding**; v. 7, n.3, p.176-178, 2003.

JANNESARI, M. et al. Composite poly(vinyl alcohol)/poly(vinyl acetate) electrospun nanofibrous mats as a novel wound dressing matrix for controlled release of drugs. **International Journal of Nanomedicine**, v. 6, p. 993-1003, 2011.

JOHNSON J.R., DELAVARI P., AZAR M. Activities of a nitrofurazone containing urinary catheter and a silver hydrogel catheter against multidrug resistant bacteria characteristic of catheter associated urinary tract infection. **Antimicrob. Agents Ch.**, n. 43, v. 12, p. 2990-2995, 1999.

KIM J.O. et al. Development of clindamycin-loaded wound dressing with polyvinyl alcohol and sodium alginate. **Biological and Pharmaceutical Bulletin**, v. 31, n.12, p. 2277-82, 2008a

_____. Development of polyvinyl alcohol-sodium alginate gel-matrix-based wound dressing system containing nitrofurazone. **International Journal of Pharmaceutics**. v. 359; n.1-2, p. 79-86, 2008).

JORGENSEN, J.H.; TURNIDGE, J.D., WASHINGTON, J.A. Antimicrobial susceptibility tests: dilution and disk diffusion methods. In: Murray, R.P. et al. **Manual of Clinical Microbiology**. 7. ed. American Society for Microbiology, Washington DC, 1999. 1671p.

JÚNIOR, G.A.M. **Esferas de goma do cajueiro e quitosana para liberação de fármacos**. 2007. 82 f. Dissertação (Mestrado em Química Inorgânica) – Centro de Ciências, Universidade Federal do Ceará, Fortaleza, 2007.

KIM, S. et al. Engineered polymers for advanced drug delivery. **European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics**, v. 71, n.3, p. 420-30, 2009.

KINCAID, MR. Options in wound care. **International Journal of Pharmaceutical Compounding**, v. 6, n. 2, p, 92-95, 2002.

KUMAR, M.N.V.R.; KUMAR, N. Polymeric controlled drug-delivery systems: perspective issues and opportunities. **Drug Development and Industrial Pharmacy**, v. 27, n. 1, p. 1-30, 2001.

LANGER, R. Drug Delivery and Targeting. **Nature**, v. 30; n. 392(Suppl. 6679): p. 5-10, 1998.

LE HIR, A. **Noções de farmácia galênica**. 6.ed. São Paulo: Organização Andrei, 1997, 444p.

LI, B.; et al. Physical properties and loading capacity of starch-based microparticles crosslinked with trisodium trimetaphosphate. **Journal of Food Engineering**, v.92, p. 225-260, 2009.

LIU Y. et al. Physically crosslinked composite hydrogels of PVA with natural macromolecules: structure, mechanical properties, and endothelial cell compatibility. **Journal of Biomedical Materials Research: Applied Biomaterials**, v. 90(B), n.2; p. 492-502, 2009.

LOPES C. M., LOBO J. M. S., COSTA P. Formas farmacêuticas de liberação modificada: polímeros hidrófilos. **Revista Brasileira de Ciências Farmacêuticas**, v. 41, n. 2, p. 143-154, 2005.

LOSER, N. **Desenvolvimento de membranas mistas a base de poli(indeno) sulfonado e PVA reticulado com objetivo de aplicação em célula a combustível tipo PEM**. 2011. 84 f. Dissertação (Mestrado em Engenharia)- Programa de Pós-Graduação em Engenharia de Minas, Metalúrgica e Materiais. Universidade Federal do Rio Grande do Sul. 2011.

LUCA, M. et al. Kinetic studies of nitrofurazone photodegradation by multivariate curve resolution applied to UV-spectral data. **International Journal of Pharmaceutics**. v. 386, n.1-2, p.99–107, 2010.

LYRA M. A. M. et al. Sistemas Matriciais Hidrofílicos e Mucoadesivos para Liberação Controlada de Fármacos. **Latin American Journal of Pharmacy**, v. 26, n.5, p. 784-93, 2007.

MANDELBAUM S.H; Di SANTIS E.P.; MANDELBAUM M.H.S. Cicatrização: conceitos atuais e recursos auxiliares - Parte I. **Anais Brasileiros de Dermatologia**, Rio de Janeiro, v.78, n.4, p.393-410, jul./ago, 2003a,.

_____. Cicatrização: conceitos atuais e recursos auxiliares - Parte II. **Anais Brasileiros de Dermatologia**, Rio de Janeiro, v. 78, n. 5, p.393-410, 2003b.

MANO, E.B.; MENDES, L.C. **Introdução a polímeros**. 2ª ed. São Paulo: Edgard Blucher Ltda, 1999, 191p.

MANSUR H.S. et al. FTIR spectroscopy characterization of poly (vinyl alcohol) hydrogel with different hydrolysis degree and chemically crosslinked with glutaraldehyde. **Materials Science and Engineering: C**. v. 28, n.4,p. 539-548, 2008.

MARCHIORI M. L. et al. Hydrogel containing dexamethasone-loaded nanocapsules for cutaneous administration: preparation, characterization, and in vitro drug release study. **Drug Development and Industrial Pharmacy**. v. 36, n.8, p. 962-71, 2010.

MIYATA, T., et. al. Biomolecule-sensitive hydrogels. **Advanced Drug Delivery Reviews**, n. 54, p.79-98, 2002.

MORETTO A et al. Slow release of two antibiotics of veterinary interest from PVA hydrogels. **II Farmaco**, v. 59, n.1, p.1-5, 2004,

MURPHY, D.J. et al. Physical characterisation and component release of poly(vinyl alcohol)–tetrahydroxyborate hydrogels and their applicability as potential topical drug delivery systems. **International Journal of Pharmaceutics**, v. 423, n.2, p.326-334, 2011.

NAKAGAWA, T.et al. Preparation of floating drug delivery system by plasma technique. **Chemical & Pharmaceutical Bulletin**, v.54, n.4, p.514-518, 2006.

NANGIA, A. Ciência e tecnologia dos sistemas bioadesivos de administração oral direcionada. **Pharmaceutical Technology**. Ed. Brasileira, v. 13, n.4, p.6-68, 2009.

NCCLS. **Performance Standards for Antimicrobial Disk Susceptibility Tests; Approved Standard—Eighth Edition**. NCCLS document M2-A8 [ISBN 1-56238-485-6]. NCCLS, 940 West Valley Road, Suite 1400, Wayne, Pennsylvania 19087-

1898 USA, 2003). Disponível em:
<http://www.anvisa.gov.br/servicosade/manuais/clsi/clsi_OPASM2-A8.pdf>.
Acessado em 20 fev 2012.

NETO, C. G. T. et al. Permeability studies in chitosan membranes. Effects of crosslinking and poly(ethylene oxide) addition. **Carbohydrate Research**, v. 340, n. 17, p. 2630-2636, 2005.

OLIVEIRA, R.B.; LIMA E. M..Polímeros na obtenção de sistemas de liberação de fármacos. **Revista Eletrônica de Farmácia**, v. 3, n. 2, p. 29-35, 2006.

OPH. Nitrofurans. Louisiana Department of Health and Hospitals. **The Infectious Disease Epidemiology Section**. Office of Public Health: **Preliminary report Section II**. Disponível em:
<http://new.dhh.louisiana.gov/assets/oph/Center-PHCH/Center-CH/infectious-epi/AntibioticSensitivity/VetRelatedAR/AntibioticAnimal2006_Bacteria.pdf>. Acesso em: 01 mar. 2011.

OREFICE, Rodrigo Lambert. Materiais poliméricos – ciência e aplicação como biomateriais. In: **Biomateriais: fundamentos e aplicações**. Rio de Janeiro: Ed. Cultura Médica, 2006. 530p.

PAOLETTI, J. Head-to-Toe Solutions: A Quick Review Current Therapies. **International Journal of Pharmaceutical Compounding**, v.8, n.5, p. 345-352, 2004.

PAULA, F.R.; SERRANO, S.H.P.; TAVARES, L.C. Aspectos mecanísticos da bioatividade e toxicidade de nitrocompostos. **Química Nova**, v. 32, n. 04, p. 1013-1020, 2009.

Peppas N. A., Korsmeyer R.W. **Hydrogels in Medicine and Pharmacy**, Peppas N .A., Ed., CRC Press, Flo., v. 3, p. 110-129, 1986.
_____, et.al. Polymers in controlled drug delivery. **Medical Plastics and Biomaterials Magazine**, p.34-46, 1997.

_____; Wright L. S.; Drug diffusion and binding in ionizable interpenetrating networks from poly(vinily alcohol) and poly(acrylic acid). **European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics**, v. 46, n. 3, p. 15-29, 1998.

_____. et al. Hydrogels in pharmaceutical formulations. **European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics**, v. 50, n. 1, p. 27-46, 2000.

_____; Hassan, C.M. Structure and Applications of Poly(vinyl alcohol) Hydrogels Produced by Conventional Crosslinking or by Freezing/Thawing Methods. **Advances in Polymer Science**, v.153, p. 37-65, 2000 b.

_____. et al. Physicochemical Foundations and Structural Design of Hydrogel in Medicine and Biology. **Annual Review of Biomedical Engineering**, v.2, p. 9-29, 2000 c.

PHILLIPS, G. O.; WILLIAMS, P. A. **Handbook of hydrocolloids**, CRC Press, Cambridge, England, 2000, 450p..

PILLAI, O.; PANCHAGNULA, R. Polymers in drug delivery. **Current Opinion in Chemical Biology**; v. 5, n. 4, p.447-451, 2001.

PRAXEDES, C. I. S.. Avaliação da sensibilidade de Enterobacteriaceae da microbiota intestinal de frangos de corte submetidos à dieta com nitrofuranos. 2012. 123 f. Tese (Doutorado). Universidade Federal Fluminense. Rio de Janeiro, 2012. Disponível em: <http://www.uff.br/higiene_veterinaria/teses/tesecarlapraxedes.pdf>. Acesso em 22 abr. 2012.

RACE, P.R. et al. Structural and mechanistic studies of Escherichia coli nitroreductase with the antibiotic nitrofurazone: Reversed binding orientations in different redox states of the enzyme. **Journal of Biological Chemistry**, v. 280, n.13, p. 256-64, 2005.

RAMANATHAN M.; DARLING S.B. Mesoscale morphologies in polymer thin films. **Progress in Polymer Science**, v. 36, n. 6, p. 793-812, 2011.

RAVI, P.R.; GANGA, S.; SAHA, R.N. Design and study of lamivudine oral controlled release tablets. **AAPS Pharmaceutical Science & Technology**, v.8, n.4, p. 165-175, 2007.

REDESCHI, M. C. M. Preparação e caracterização de filmes a base de xiloglucana extraída de sementes de Hymenaea courbaril (jatobá). 2006. 95 f. Dissertação (Mestrado) - Programa de Pós-Graduação em Ciências Farmacêuticas, Área de Pesquisa e Desenvolvimento de Fármacos e Medicamentos. Faculdade de Farmácia. Universidade Estadual Paulista Júlio de Mesquita Filho, Araraquara, 2006.

RIBANI, M. et al. Validação em métodos cromatográficos e eletroforéticos. **Quim. Nova**, v. 27, n. 5, p. 771 – 780, 2004.

ROGERO S. O. Matriz de hidrogel de poli-vinil pirrolidona (PVP) e polietilenoglicol (PEG) para dispositivo de liberação de fármaco. In: **CBECIMat - Congresso Brasileiro de Engenharia e Ciência dos Materiais**, 17,15 a 19 de novembro de 2006, Foz do Iguaçu, PR, Brasil. Disponível em < <http://www.ipen.br/biblioteca/2006/cbecimat/12613.pdf>>, acessado em 21/10/2011.

ROHR, T. G. **Estudo reológico da mistura de carboximetilcelulose/amido e sua utilização como veículo de inoculação bacteriano**. 2007. 113 f. Dissertação (Mestrado em Ciências). Programa de Pós-Graduação em Engenharia Química. Instituto de Tecnologia. Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, 2007.

RUIZ, J.; MANTECÓN, A.; CÁDIZ, V. Synthesis and properties of hydrogel from poly (vinyl alcohol) and ethylenediamine-tetraacetic dianhydride. **Polymer**, v.42, n. 15, p.6347-6354, 2001.

RYAN, A. et al. Activation of nitrofurazone by azoreductases: multiple activities in one enzyme. **Scientific Reports**, v. 1, n. 63, 2011.

SADAHIRA, C. M. **Síntese, caracterização e avaliação do perfil de liberação in vitro de hidrogéis do álcool polivinílico pH sensíveis processados por métodos físico-químicos**. 2007. 76 f. Dissertação (Mestrado). Pós-Graduação em Engenharia Metalúrgica e de Minas da Universidade Federal de Minas Gerais. Área de concentração: Ciência e Engenharia de Materiais. Universidade Federal de Minas Gerais, 2007.

SANTIS, A. K. **Formas farmacêuticas semi-sólidas de uso tópico contendo nifedipina: desenvolvimento galênico e avaliação biofarmacotécnica**. 2008. 156 f. Dissertação (Mestrado). Pós-Graduação em Ciências Farmacêuticas. Universidade Federal do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro, 2008.

SEABRA A.B., OLIVEIRA M.G. Poly(vinyl alcohol) and poly(vinyl pyrrolidone) blended films for local nitric oxide release. **Biomaterials**, v. 25, n. 17, p. 3773-82, 2004.

SINCLAIR R.D., RYAN T.J. A great war for antiseptics. **Wound Management**, v. 4, n. 1, p. 16-18, 1993.

SBD. Sociedade Brasileira de Diabetes. **São 12 milhões de diabéticos no Brasil**. Disponível em: <<http://www.diabetes.org.br/sala-de-noticias/2116-sao-12-milhoes-de-diabeticos-no-brasil>>. Acesso em: 18 abr. 2012.

SONG A., RANE A.A., CHRISTMAN K.L. Antibacterial and cell-adhesive polypeptide and poly(ethylene glycol) hydrogel as a potential scaffold for wound healing. **Acta Biomaterials**, v. 8, n. 1, p. 41-50, 2012.

SOTO, D.; OLIVA, H. Métodos para preparar hidrogeles químicos y físicos basados em almidón: una revisión. **Revista Latinoamericana de Metalurgia y Materiales.**, vol. 32, n. 2, p. 154-175, 2012.

SOUSA M.D; BARBOSA C.M. Polímeros com capacidade de reconhecimento molecular no controlo da libertação de fármacos. Parte 1: síntese e caracterização. **Química Nova**, v. 32, n. 6, p. 1609-1619, 2009.

SOUZA, L. K. **Utilização de sistemas poliméricos híbridos orgânico-inorgânicos no desenvolvimento de sistemas formadores de filme.** Dissertação de Mestrado. 2010, 100f. Programa de Pós-Graduação em Ciências Farmacêuticas - Área de Pesquisa e Desenvolvimento de Fármacos e Medicamentos, Universidade Estadual Júlio de Mesquita, 2010.

SUDHAKAR Y., KUTSU K. and BANDYOPADHYAY A.K., Buccal Bioadhesive drug delivery – A promising option for orally less efficient drugs. **Journal of Controlled Release**. v. 114, p.15-40, 2006.

SUNG JH et al. Gel characterization and in vivo evaluation of minocycline-loaded wound dressing with enhanced wound healing using polyvinyl alcohol and chitosan. **International Journal of Pharmaceutics**, v. 392, n.1-2, p. 232-240, 2010.

SUZUKI K., et al. A new drug delivery system with controlled release of antibiotic only in the presence of infection. **Journal of Biomedical Material Research**, v. 42, n. 1, p.112-116, 1998.

SWARBRICK, J.; BOYLAN, J. **Encyclopedia of Pharmaceutical Technology**, Informa Healthcare, England. 2001, 500p.

TARDELLI, E. R. **Desenvolvimento de pré-formulação de mucoadesivo bucal como carreador de fármaco.** 2010. 102 f. Dissertação de Mestrado (Programa de Pós Graduação em Ciências Farmacêuticas). Universidade de Sorocaba, Sorocaba, 2010.

USP. THE UNITED STATES PHARMACOPEIA. **THE NATIONAL FORMULARY**. 28º ed. Rockville: Unites States Pharmacopeial Convention, 2005.

TORSIELLO, M.J.; KOPACKI, M.H. Transdermal Nifedipine for wound healing: case reports. **International Journal of Pharmaceutical Compounding**, v.4, n.5, p. 356-358, 2000.

TUBINO M., VILA M.M.D.C., PALUMBO M.N. Determination of Nitrofurazone in Topical Pharmaceutical Preparations: Comparison of the UV-Visible versus Diffuse Reflectance. **Journal of Brazilian Chemical Society**, n. 20, n.4, p.604-612, 2009. Disponível em : <http://www.sgponline.com.br/homo_jbcs/site/default.asp?ed=55>. Acesso em 10 jan 2012.

VALENTA, C.; SCHULTZ, K. Influence of carrageenan on the rheology and skin permeation of microemulsion formulations. **Journal of Controlled Release**, v.95, n. 2, p. 257-265, 2004.

van OLPHEN, H. An Introduction to Clay Colloid Chemistry. 2 ed.; Wiley-Interscience: New York, 1977. 318 p.

VARUM, F. O. et al. Estudos de mucoadesão no trato gastrointestinal para o aumento da biodisponibilidade oral de fármacos. **Revista Brasileira de Ciências Farmacêuticas**, v. 44, n. 4, p. 535-548, 2008.

VENDRUSCOLO, C.W. et al. Xanthan and galactomannan (from *M. scabrella*) matrix tablets for oral controlled delivery of theophylline. **International Journal of Pharmaceutics**, v.296, n. 1-2, p. 77-83, 2005.

VILLANOVA, J. C. O.; Sá, V. R. **Excipientes: guia prático para padronização**. São Paulo: Pharmabooks, 2009. 434p.

VILLANOVA, J. C. O. et al. Aplicações farmacêuticas de polímeros. **Polímeros: Ciência e Tecnologia**, v. 20, n. 1, p. 51-64, 2010.

YOSHIDA, V. M. H. **Desenvolvimento e avaliação de sistemas gastrorretensivos flutuantes para liberação controlada de zidovudina**. 2009. 98 f. Dissertação (Mestrado em Ciências Farmacêuticas). Universidade de Sorocaba, Sorocaba, 2009.

YILMAZ, S. et al. The *in vitro* efficacy of Nitrofurazone-Rifamycin combination. **Annual Microbiology**, n.52, p. 317-321, 2002.