

UNIVERSIDADE FEDERAL DE PERNAMBUCO
CENTRO DE TECNOLOGIA E GEOCIÊNCIAS
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM ENGENHARIA BIOMÉDICA

GILVÂNIA MARINETE DE SANTANA

**DESENVOLVIMENTO E CARACTERIZAÇÃO DE
FILMES POLIMÉRICOS BASEADOS EM AGAROSE
COM A INCORPORAÇÃO DE CIPROFLOXACINA PARA
UTILIZAÇÃO COMO NOVO SUBSTITUTO
TEMPORÁRIO DE PELE**

Recife - PE

2015

GILVÂNIA MARINETE DE SANTANA

**DESENVOLVIMENTO E CARACTERIZAÇÃO DE
FILMES POLIMÉRICOS BASEADOS EM AGAROSE
COM A INCORPORAÇÃO DE CIPROFLOXACINA PARA
UTILIZAÇÃO COMO NOVO SUBSTITUTO
TEMPORÁRIO DE PELE**

Dissertação de mestrado apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Engenharia Biomédica, da Universidade Federal de Pernambuco, como parte dos requisitos para a obtenção do título de Mestre em Engenharia Biomédica.

ORIENTADOR: Prof. Dr. Ricardo Yara

CO-ORIENTADORA: Prof^a. Dr^a. Lêda
Cristina da Silva

Recife

2015

Catálogo na fonte
Bibliotecária Valdícea Alves, CRB-4 / 1260

| | |
|-------|--|
| S231d | <p>Santana, Gilvânia Marinete de. Desenvolvimento e caracterização de filmes poliméricos baseados em agarose com a incorporação de ciprofloxacina para utilização como novo substituto temporário de pele / Gilvânia Marinete de Santana. - Recife: O Autor, 2015. 91folhas, Il., Abr., Simb., Sigl., e Tab.</p> <p>Orientador: Prof.º Dr. Ricardo Yara. Coorientadora: Profª. Drª. Lêda Cristina da Silva.</p> <p>Dissertação (Mestrado) – Universidade Federal de Pernambuco. CTG. Programa de Pós-Graduação de Engenharia Biomédica, 2015. Inclui Referências e Apêndices.</p> <p>1. Engenharia Biomédica. 2. Agarose. 3. Ciprofloxacina. 4. Filmes poliméricos. 5. Substitutos cutâneos. I. Yara, Ricardo. (Orientador). II. Silva, Lêda Cristina da.(Coorientadora). III. Título.</p> <p style="text-align: right;">UFPE</p> <p>610.28 CDD (22. ed.) BCTG/2015-148</p> |
|-------|--|

GILVÂNIA MARINETE DE SANTANA

**DESENVOLVIMENTO E CARACTERIZAÇÃO DE
FILMES POLIMÉRICOS BASEADOS EM AGAROSE
COM A INCORPORAÇÃO DE CIPROFLOXACINA PARA
UTILIZAÇÃO COMO NOVO SUBSTITUTO
TEMPORÁRIO DE PELE**

Essa dissertação foi julgada adequada para a obtenção do título de Mestre em Engenharia Biomédica e aprovada em sua forma final pelo Orientador e pela Banca Examinadora.

Aprovado em: 20 de Fevereiro de 2015

Banca Examinadora:

Prof. Dr. Ricardo Yara, UFPE
Doutor pela Universidade de São Paulo – São Paulo, Brasil (Orientador).

Prof^ª. Dr^ª. Adriana Fontes, UFPE
Doutor pela Universidade Estadual de Campinas – Campinas, Brasil (Membro interno).

Prof^ª. Dr^ª. Beate Saegesser Santos, UFPE
Doutor pela Universidade Federal de Pernambuco - Recife, Brasil (Membro externo).

Coordenador do PPGEB: _____
Prof. Dr. Rosa Amalia Fireman Dutra

Recife, 20 de Fevereiro de 2015

DEDICATÓRIA

Aos meus pais **Paulo e Marinete**, aos meus irmãos **Valdilene, Lucivânia, Givanildo, Leonaldo e Walterlins** e aos meus sobrinhos **Sther, Julia e Miguel**, por todo amor, carinho e incentivo, dedico.

AGRADECIMENTO

O que eu posso dar ao Senhor por tudo de bom que ele tem feito por mim? Eu vou adorá-lo todos os dias da minha vida. Salmos 116. 12-13.

A **Deus** por ter me concedido todas as coisas que possuo, sem a presença dEle em minha vida eu nada seria.

Aos meus pais **Paulo e Marinete**, meu alicerce, minha rocha, meus espelhos. Obrigado por todo amor e carinho, amo muito vocês.

Aos meus irmãos **Valdilene, Lucivânia, Givanildo, Leonaldo e Walterlins** e aos meus sobrinhos **Sther, Julia e Miguel**, por cada palavra de amor, carinho e incentivo, # é muito amor envolvido.

Aos meus orientadores **prof. Dr. Ricardo Yara** pela oportunidade e a **Prof. Dr.^a Lêda Cristina Silva**, por ter me aceitado, por todo o auxílio e pela grande oportunidade que me concedeu me mostrando como ser ética e como ser uma boa profissional, sempre lhe terei um carinho enorme. As professoras **Dr.^a Claudia S. de A. Lima, Dr.^a Adriana Fontes e Dr.^a Beate Saegesser**, por me aceitarem em seu laboratório e por todo aprendizado concedido.

A **Natália** (minha mãe), a **Carlos** (meu irmão) e a **Dewson**, por todo o carinho, cuidado e companheirismo, por estarem sempre comigo em qualquer momento.

Aos meus amigos do grupo do Laboratório de Biofísica-Química, grupo de pesquisa NANOBIO/BIONAT, em especial **João Paulo, Isabela, Anna Lívia, Renan, Rafael Lívia, Jessika, Sheila, Paulo Euzebio, Wadja, Yago, Bruna, Anne e Paula** por todos os momentos de alegria e descontração essenciais nessa caminhada.

Aos meus tios **Marcos e Lú** e a minha avó **Alice**, pela acolhida aqui em Recife.

À **Prof. Dr.^a Kêsia Xisto** e todos do laboratório de Microbiologia Aplicada do UFPEDA. A **Lenine** pelo auxílio com o MEV e o DRX. À equipe da Central Analítica do DQF pelas análises de FTIR e MEV. Ao prof. **Herculano** e toda a sua equipe pelas análises da Cinética de liberação.

A coordenação do programa de Pós-graduação em Engenharia Biomédica por todo apoio e aos meus colegas de turma **Erika, Sandra, Wendel, Bia, Charle, Max, Allan, Camila e Isabela** por todo o companheirismo.

Obrigada a todos!

RESUMO

A pele é o maior órgão do corpo humano possuindo diversas funções importantes. No caso de alguma lesão cutânea o seu tratamento precisa ser rápido e eficaz, com o propósito de se restaurar a viabilidade celular e evitar possíveis infecções. Dentre as lesões existentes, as queimaduras são as principais causas de danos à pele. Nos últimos anos, tem se desenvolvido pesquisas com o intuito de melhorar o tratamento e a qualidade de vida dos pacientes com esses tipos de lesões cutâneas. Neste contexto, os substitutos temporários de pele surgem como uma nova tecnologia para o tratamento de queimaduras, que são dispositivos utilizados com a finalidade de auxiliar na regeneração cutânea, prevenindo a perda de líquidos e eletrólitos, e o aparecimento de infecções. Esse trabalho teve por objetivo a elaboração de filmes poliméricos com a incorporação de um antibiótico hidrofílico, a Ciprofloxacina, para possível utilização como substituto temporário de pele, visando dessa forma contribuir com o arsenal terapêutico existente. Foram preparados filmes de agarose com e sem a Ciprofloxacina, por meio do sistema de *casting*, utilizando-se água como solvente e glicerol como agente plastificante. A partir dessa formulação, realizaram-se ensaios para a avaliação das propriedades morfológicas e mecânicas desses filmes, e para avaliar o comportamento dos filmes poliméricos em contato com a água. Os filmes foram caracterizados por espectrometria no Ultravioleta/Visível (UV/Vis), espectroscopia no Infravermelho com Transformada de Fourier (FT-IR), espectroscopia Raman, Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV) e Difração de Raios-X (DRX). Adicionalmente foi avaliada a cinética de liberação da Ciprofloxacina para o meio externo. Além disso, realizaram-se ensaios para a avaliação da atividade antimicrobiana dos filmes de agarose sem e com a incorporação de Ciprofloxacina frente a micro-organismos gram-positivos e gram-negativos. Os ensaios morfológicos demonstraram que os filmes são aderentes e transparentes, apresentando espessura entre 40 e 57 μm . A incorporação da Ciprofloxacina não alterou as propriedades de interação com a água, apesar de deixá-los mecanicamente mais resistentes, apresentando uma tensão de ruptura de 17,32 MPa nos filmes sem antibiótico e 32,99 MPa para os filmes contendo Ciprofloxacina. As análises espectroscópicas constataram uma incorporação uniforme do antibiótico aos filmes, e que os filmes apresentam uma estrutura amorfa e sem rachaduras. Nos ensaios de liberação, observou-se que uma grande quantidade de Ciprofloxacina é liberada durante as primeiras 24 horas, permanecendo estável por 96 horas. Nos ensaios antimicrobianos, os resultados indicaram que a inibição frente aos micro-organismos *Staphylococcus aureus* e *Pseudomonas aeruginosa* foi de aproximadamente 100%. Diante disso, é possível concluir que os filmes produzidos nessa pesquisa apresentaram características adequadas para uma possível utilização como substituto temporário de pele, tais como: espessura, transparência, homogeneidade, interação com a água e atividade antimicrobiana.

Palavras-chave: Agarose, Ciprofloxacina, Filmes poliméricos, Substitutos cutâneos.

ABSTRACT

The skin is the largest organ of the human body having several important functions. When there is some kind of skin lesion your treatment needs to be fast and effective, in order to restore cell viability and prevent possible infections. Burns are the main cause of skin damage, in recent years, research has been developed with the aim of improving the treatment and quality of life for patients with these types of skin lesions. In this context, temporary skin substitutes emerge as a new technology for the treatment of burns. They are devices used for the purpose of assisting in the regeneration of skin, preventing the loss of fluid and electrolytes, and the appearance of infections. They are devices used for the purpose of assisting in the regeneration of skin, preventing the loss of fluid and electrolytes, and the appearance of infections. This study aimed to the preparation of polymeric films with the incorporation of hydrophilic antibiotic, Ciprofloxacin, for possible use as a temporary replacement skin thereby pursuing contribute to the therapeutic armamentarium. Agarose films and agarose films with Ciprofloxacin were prepared by casting system using water as the solvent and glycerol as a plasticizer. From this formulation, tests were conducted for evaluation of the morphological and mechanical properties, and tests to evaluate the behavior of polymer film in contact with water. They were characterized by spectroscopic Ultraviolet / Visible (UV / Vis), Fourier transformed infrared spectroscopy (FT-IR), Raman spectroscopy, Scanning Electron Microscopy (SEM) and X ray diffraction (XRD). In addition, we evaluated the release kinetics of ciprofloxacin to the external environment. In addition, trials were carried out to evaluate the antimicrobial activity of films and agarose embedding ciprofloxacin against micro-organisms gram-positive and gram-negative. Morphological studies showed that the films are adhesive and transparent, with thickness between 40 and 57 μm . The incorporation of Ciprofloxacin not alters the properties of interaction with water although leaving them more mechanically resistant and showed a 17.32 MPa breaking strain in agarose films and 32.99 MPa for the films containing ciprofloxacin. Spectroscopic analysis showed the uniform incorporation of the antibiotic to the fims, also demonstrating that the films have an amorphous structure and no cracks. In the release test, it was observed that a large amount of ciprofloxacin is released during the first 24 hours and remained stable for 96 hours. In the antimicrobial tests, the results indicated that inhibition front of microorganisms *Staphylococcus aureus* and *Pseudomonas aeruginosa* was approximately 100%. Therefore, we conclude that the films produced in this research showed suitable characteristics for possible use as a temporary skin substitute, among which it is cited, thickness, transparency, consistency, interaction with water and antimicrobial activity.

Keywords: Agarose, Ciprofloxacin, skin substitutes, polymeric films.

LISTA DE FIGURAS

| | |
|---|----|
| Figura 1. Representação esquemática da pele. | 4 |
| Figura 2. Composição dos Biomateriais..... | 13 |
| Figura 3. (A) União dos meros para a formação do polímero, (B) Estrutura química do etileno seguida da estrutura química do polietileno. | 14 |
| Figura 4. Estrutura química da agarose. | 16 |
| Figura 5. Identificação dos sítios de ação das quinolonas..... | 18 |
| Figura 6. Estrutura química da Ciprofloxacina. | 19 |
| Figura 7. Representação esquemática do mecanismo de ação das fluorquinolonas..... | 20 |
| Figura 8. Esquema da síntese dos filmes poliméricos com e sem a incorporação da Ciprofloxacina. | 24 |
| Figura 9. Espectrofotômetro UV-Vis modelo UV 1800 UV ESPECTROFOTÔMETRO (SHIMADZU – Japão). | 29 |
| Figura 10. Espectrofotômetro FT-IR modelo Spectrum 400 FT-IR/FT-NIR Spectrometer..... | 29 |
| Figura 11. Esquema representativo do método de difusão em meio líquido..... | 33 |
| Figura 12. Esquema representativo das metodologias de diluição e semeio em rede. ... | 34 |
| Figura 13. (A) Filme polimérico de agarose, (B) filme polimérico de agarose incorporado com Ciprofloxacina. | 36 |
| Figura 14. (A) filme preparado com 0,1 g de agarose ($1,98 \text{ g/cm}^2$ de placa); (B) filme de agarose ($1,98 \text{ g/cm}^2$ de placa) contendo 2,2 mg de Ciprofloxacina. | 37 |
| Figura 15. (A) Microscopia eletrônica de varredura (MEV) para o filme de agarose com magnificação de 1000 x; (B) e para os filmes de agarose contendo Ciprofloxacina..... | 39 |
| Figura 16. Representação gráfica dos resultados do ensaio de absorção de água para os filmes de agarose e para os filmes de agarose contendo Ciprofloxacina. | 42 |
| Figura 17. Representação gráfica dos resultados do ensaio de monitoramento do peso dos filmes de agarose e dos filmes de agarose contendo Ciprofloxacina durante 144 h.43 | |
| Figura 18. Representação gráfica dos resultados do ensaio de monitoramento do peso dos filmes de agarose e dos filmes de agarose contendo Ciprofloxacina durante 90 dias. | 44 |
| Figura 19. Espectro de absorção eletrônica na região do UV-Vis do filme | 47 |
| Figura 20. Espectro de absorção eletrônica na região do UV-VIS do filme | 48 |
| Figura 21. Espectro de absorção eletrônica na região do UV-VIS do filme | 48 |

| | |
|---|----|
| Figura 22. (A) Espectro de absorção vibracional na região do infravermelho com transformada de Fourier do filme de agarose, (B) estrutura química da agarose,..... | 50 |
| Figura 23. (A) Espectro de absorção vibracional na região do infravermelho com transformada de Fourier do filme de agarose incorporado com Ciprofloxacina, | 51 |
| Figura 24. Espectro de absorção vibracional na região do infravermelho com transformada de Fourier do filme de agarose incorporado com uma dose de Ciprofloxacina 10 vezes maior que a utilizada na preparação dos filmes. | 52 |
| Figura 25. Espectro de absorção vibracional na região do infravermelho com transformada de Fourier da agarose utilizada para a produção dos filmes. | 52 |
| Figura 26. Espectro de absorção vibracional na região do infravermelho com transformada de Fourier da Ciprofloxacina utilizada para a produção dos filmes. | 53 |
| Figura 27. Espectro de absorção vibracional na região do infravermelho com transformada de Fourier da glicerina utilizada como agente plastificante | 53 |
| Figura 28. Espectro Raman do filme de agarose. | 56 |
| Figura 29. Espectro Raman do filme de agarose incorporado com Ciprofloxacina. | 57 |
| Figura 30. Espectro Raman da agarose. | 57 |
| Figura 31. Espectro Raman da Ciprofloxacina. | 58 |
| Figura 32. Espectro Raman da glicerina. | 58 |
| Figura 33. Gráficos de DRX obtidos para (A) a agarose (pó), (B) para os filmes de agarose, (C) para a Ciprofloxacina (pó) e (D) para os filmes. | 61 |
| Figura 34. Espectro de absorção da Ciprofloxacina (preto) e da agarose (vermelho) na região do UV-Vis demonstrando a liberação do antibiótico em relação ao tempo, | 62 |
| Figura 35. Representação gráfica da liberação do fármaco dos filmes de agarose contendo 2,2 mg de Ciprofloxacina durante 96 h. | 63 |
| Figura 36. Representação gráfica da liberação do fármaco dos filmes de agarose contendo 22 mg de Ciprofloxacina durante 144 h. | 63 |
| Figura 37. Espectro de absorção eletrônica dos filmes poliméricos de agarose com a incorporação da Ciprofloxacina para diferentes regiões do filme. | 65 |
| Figura 38. Representação gráfica dos espectros de absorção eletrônica no UV-Vis mostrando a estabilidade da Ciprofloxacina incorporada aos | 66 |
| Figura 39. Representação gráfica dos espectros de absorção eletrônica que mostram .. | 67 |
| Figura 40. Representação gráfica da diminuição do pico máximo da Ciprofloxacina... | 68 |
| Figura 41. Resultado do teste de difusão em meio líquido. | 69 |
| Figura 42. Resultados dos semeios em rede no teste de atividade | 70 |

LISTA DE TABELAS

| | |
|---|----|
| Tabela 1. Classificação das queimaduras quanto a sua gravidade. | 8 |
| Tabela 2. Propriedades do substituto dermoepidérmico ideal. | 11 |
| Tabela 3. Quantidade de agarose, glicerol e água empregadas na síntese dos filmes. ... | 23 |
| Tabela 4. Quantidade de reagentes para a síntese dos filmes poliméricos que foram empregados nos testes mecânicos..... | 28 |
| Tabela 5. Médias das espessuras dos filmes de agarose e dos filmes de agarose contendo Ciprofloxacina. | 36 |
| Tabela 6. Relação entre a absorbância e transparência nos filmes poliméricos de agarose com e sem Ciprofloxacina. | 38 |
| Tabela 7. Teor de umidade, em percentagem, para os filmes de agarose e para os filmes de agarose com Ciprofloxacina. | 40 |
| Tabela 8. Testes mecânicos - tensão e alongamento na ruptura para os filmes de agarose e os filmes de agarose contendo Ciprofloxacina. | 45 |
| Tabela 9. Assinalamento das bandas de absorção vibracional na região do infravermelho com transformada de Fourier. | 55 |
| Tabela 10. Assinalamento das bandas de absorção vibracional na região do infravermelho com transformada de Fourier e de Raman. | 59 |
| Tabela 11. Contagem das unidades formadoras de colônia do semeio em rede para os micro-organismos <i>S. aureus</i> e <i>P. aeruginosa</i> | 71 |

LISTA DE ABREVIATURAS

| | |
|--------|---|
| ASTM | American Society for Testing and Materials |
| ANOVA | Técnica estatística para avaliar análises de variâncias |
| DRX | Difração de Raios – X |
| DDS | Drug Delivery System |
| DNA | Ácido Desoxirribonucleico |
| FT-IR | Espectroscopia de absorção no Infravermelho com Transformada de Fourier |
| FDA | Food and Drug Administration |
| IUPAC | <i>International Union of Pure and Applied Chemistry</i> |
| LEB | Laboratório de Engenharia Biomédica |
| MEV | Microscopia Eletrônica de Varredura |
| MH | Mueller Hinton |
| PBS | Tampão Salino Fosfato |
| RI | Razão de Intumescimentos |
| SLF | Sistema de Liberação de Fármaco |
| UV | Ultravioleta |
| UV-VIS | Espectroscopia de absorção na região do Ultravioleta – Visível |
| UFC | Unidade Formadora de Colônias |
| UFC/ml | Unidades Formadoras de Colônias por ml |
| UFPE | Universidade Federal de Pernambuco |
| UFPEDA | Coleção de Culturas de Micro-organismos do Departamento de Antibióticos da Universidade Federal de Pernambuco |

LISTA DE SÍMBOLOS / SIGLAS

| | |
|------------------|---|
| % | Porcentagem |
| °C | Grau Celsius |
| Mg | Miligrama |
| cm ² | Centímetro ao quadrado |
| Mm | Milímetro |
| G | Gramma |
| mL | Mililitro |
| μL | Microlitro |
| KN | Quilonewton |
| Mpa | Megapascal |
| H | Horas |
| cm ⁻¹ | Unidade de medida referente ao número de onda |

SUMÁRIO

| | |
|--|----|
| 1 INTRODUÇÃO | 1 |
| 2. REVISÃO DA LITERATURA | 4 |
| 2.1 A Pele | 4 |
| 2.2 Queimaduras | 6 |
| 2.2.1 Principais bactérias presentes em queimaduras | 8 |
| 2.3 Substitutos cutâneos | 10 |
| 2.4 Biomateriais | 12 |
| 2.4.1 Polímeros | 14 |
| 2.5 Agarose | 15 |
| 2.6 Ciprofloxacina | 17 |
| 3. OBJETIVOS | 22 |
| 3.1 Objetivo Geral | 22 |
| 3.2 Objetivos Específicos | 22 |
| 4 MATERIAIS E MÉTODOS | 23 |
| 4.1 Síntese dos filmes poliméricos | 23 |
| 4.1.1 Filmes de agarose | 23 |
| 4.1.2 Filmes de agarose incorporados com Ciprofloxacina | 24 |
| 4.2 Determinação das propriedades morfológicas | 25 |
| 4.2.1 Espessura | 25 |
| 4.2.2 Transparência | 25 |
| 4.2.3 Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV) | 25 |
| 4.3 Ensaio de interação com a água | 26 |
| 4.3.1 Teor de umidade | 26 |
| 4.3.2 Absorção de água | 26 |
| 4.3.3 Monitoramento temporal da variação do peso dos filmes poliméricos | 27 |
| 4.4 Ensaio mecânicos | 27 |
| 4.5 Análises Espectroscópicas | 28 |
| 4.5.1 Espectrofotometria de Absorção Eletrônica na região do Ultravioleta-Visível (UV-Vis) | 28 |
| 4.5.2 Espectroscopia de Absorção Vibracional na região Infravermelho com Transformada de Fourier (FT-IR) | 29 |
| 4.5.3 Espectroscopia Raman | 30 |
| 4.5.4 Difração de Raios – X (DRX) | 30 |
| 4.6 Caracterização dos filmes poliméricos em relação a interação com a Ciprofloxacina | 30 |
| 4.6.1 Liberação simulada da Ciprofloxacina | 30 |
| 4.6.1.1 Ensaio de liberação simulada piloto | 30 |

| | |
|--|----|
| 4. 6. 1. 2 Ensaio de liberação simulada | 31 |
| 4. 6. 2 Distribuição da Ciprofloxacina nos filmes poliméricos | 31 |
| 4. 6. 3 Estabilidade da Ciprofloxacina nos filmes poliméricos | 31 |
| 4. 6. 4 Degradação por meio da câmara de fotoestabilidade | 32 |
| 4. 7 Atividade antimicrobiana | 32 |
| 4. 8 Análise estatística | 34 |
| 5. RESULTADOS E DISCUSSÃO | 35 |
| 5. 1 Desenvolvimento dos filmes poliméricos | 35 |
| 5. 2 Determinações das propriedades morfológicas | 36 |
| 5. 2. 1 Espessura | 36 |
| 5. 2. 2 Transparência | 37 |
| 5. 2. 3 Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV) | 39 |
| 5. 3 Ensaios de interação com a água | 40 |
| 5. 3. 1 Teor de umidade | 40 |
| 5. 3. 2 Absorção de água | 41 |
| 5. 3. 3 Monitoramento do peso dos filmes poliméricos | 43 |
| 5. 4 Ensaios mecânicos | 45 |
| 5. 5 Análises Espectroscópicas | 46 |
| 5. 5. 1 Espectrofotometria de absorção eletrônica na região do Ultravioleta – Visível (UV-Vis) | 46 |
| 5. 5. 2 Espectroscopia de Absorção Eletrônica na região do Infravermelho com Transformada de Fourier (FT-IR) | 49 |
| 5. 5. 3 Espectroscopia Ramam | 55 |
| 5. 5. 4 Difração de raios-X (DRX) | 60 |
| 5. 6 Caracterização dos filmes poliméricos em relação a interação com a Ciprofloxacina | 62 |
| 5. 6. 1 Ensaio Liberação da Ciprofloxacina dos filmes poliméricos | 62 |
| 5. 6. 2 Distribuição da Ciprofloxacina nos filmes poliméricos | 64 |
| 5. 6. 3 Estabilidade química da Ciprofloxacina nos filmes poliméricos | 65 |
| 5. 6. 4 Degradação por meio da câmara de fotoestabilidade | 66 |
| 5. 7 Avaliação da atividade antimicrobiana | 68 |
| 6. CONCLUSÕES | 72 |
| 7. PERSPECTIVAS | 73 |
| 8. REFERÊNCIAS | 74 |

| | |
|---|----|
| APÊNDICE A – Trabalho apresentado no XIV Simpósio Latino Americano de Polímeros (SLAP) e XII Congresso Ibero Americano de Polímeros(CIP)..... | 84 |
|---|----|

1 INTRODUÇÃO

A pele é considerada o maior órgão do corpo humano, ela é um órgão complexo, com no mínimo cinco tipos diferentes de células que contribuem para a sua estrutura, e outros tipos de células temporariamente presentes a partir dos sistemas circulatório e imunológico (FORTES e SUFFREDIN, 2014). Sua função natural é proteger as estruturas internas do organismo contra o ambiente externo, incluindo as várias formas de poluição, temperatura, umidade e radiação, limitando a passagem de substâncias para o interior ou exterior do corpo, estabilizando a pressão e a temperatura, bem como mediando sensações, tais como, calor, frio, toque e dor (QUEIROZ et al., 2014). A pele humana é composta de três camadas distintas: a epiderme celular, estratificada e avascular; a derme subjacente, formada por tecido conectivo e a hipoderme, camada de gordura subcutânea (CAMPELO, 2014).

Ao ocorrer alguma agressão que gere perda do tecido cutâneo é necessária uma rápida intervenção, afim de que se regenere a viabilidade celular e as propriedades inerentes ao tecido (SILVA et al., 2013). As queimaduras são as principais causas de perda do tecido cutâneo, sendo causadas por agentes térmicos, químicos, elétricos ou radioativos. Estima-se que no Brasil ocorram cerca de um milhão de acidentes com queimaduras por ano, atingindo principalmente idosos e crianças (BOLGIANI e SERRA, 2010).

Com o intuito de melhorar a qualidade de vida dos pacientes acometidos com queimaduras, diversos tipos de curativos têm sido desenvolvidos para serem aplicados nessa área. Segundo a classificação de Novembro de 1999, da Food and Drug Administration (FDA) dos Estados Unidos da América, os curativos podem ser passivos ou convencionais, interativos e bioativos. Os convencionais têm como princípio recobrir a lesão após sua limpeza mecânica diária (exemplos: gaze, Adaptic®). Os curativos interativos são geralmente permeáveis a vapor d'água e oxigênio e impermeáveis a bactérias, absorvendo o exsudato da ferida, como o Omiderm®, enquanto os bioativos liberam substâncias ativas cicatrizantes na ferida, tendo-se como exemplos membranas à base de quitosana e algina (NICOLOSI e MORAES, 2005).

Os curativos também podem atuar como substitutos temporários da pele, podendo ser desenvolvidos de biomateriais, principalmente os poliméricos, possuindo grande utilidade na medicina. Estes biopolímeros são projetados para evitar a toxicidade

e apirogenia (OSMAN et al., 2007). Os quais possibilitam ainda a intervenção positiva sobre o processo cicatricial de lesões de pele, além de não exigirem troca frequente ou procedimentos de limpeza, o que pode representar uma melhoria significativa na qualidade da vida dos pacientes, além de redução de custo, aumentando a qualidade final do processo regenerativo (COSTA e SOUZA, 2005). Como exemplo destes biopolímeros cita-se os curativos que utilizam matriz dérmica bovina (BARRA e RODRIGUES, 2014), membranas sintetizadas a partir de celulose bacteriana (NOIA, 2009), membranas amnióticas gliceloras (PAGGIARO et al., 2012) e por fim membranas sintetizadas com quitosana (NERY, 2014).

Dentre os polímeros com potencial uso como substituto cutâneo, podemos destacar a agarose. Ela é um componente da parede celular nas algas, composto de subunidades L e D alternadas de galactose. Quando dissolvida em água quente e seguidamente arrefecida, a agarose toma uma consistência gelatinosa, cuja propriedade tem sido usada em investigação laboratorial, como no caso de fabricação de géis para eletroforese em biologia molecular, na medicina, na culinária e na indústria (SU et al., 2013).

Uma das características ideais para um substituto temporário de pele é ter ação antimicrobiana, com o intuito de se evitar possíveis infecções. Para tanto, comumente tem se incorporado à sua composição agentes que confirmam tal característica, como é o caso dos antibióticos (YÁÑEZ et al., 2014).

Dentre a gama de antibióticos existentes a Ciprofloxacina tem se destacado devido ao seu amplo espectro de ação, tanto para bactérias gram-positivas quanto para bactérias gram-negativas. A Ciprofloxacina pertence à família das fluorquinolonas, que são antibióticos orgânicos sintéticos, e têm sido bastante utilizados na agricultura, e também na medicina humana e veterinária (ZHANG et al., 2012).

Essa pesquisa apresenta uma técnica para a produção de filmes de agarose, incorporando ao biopolímero uma quantidade determinada de Ciprofloxacina, associando assim, uma ação antimicrobiana ao filme polimérico. Com isso pretende-se obter um curativo interativo ou mesmo um novo substituto temporário de pele eficaz, a fim de contribuir para o arsenal terapêutico no tratamento de queimaduras na pele, melhorando a eficiência na cicatrização e regeneração tecidual.

O trabalho inicia-se pela fundamentação teórica contendo itens referentes à importância da pele, as queimaduras e suas principais formas de tratamento, bem como, informações sobre a agarose e a Ciprofloxacina. Na sequência detalham-se os materiais,

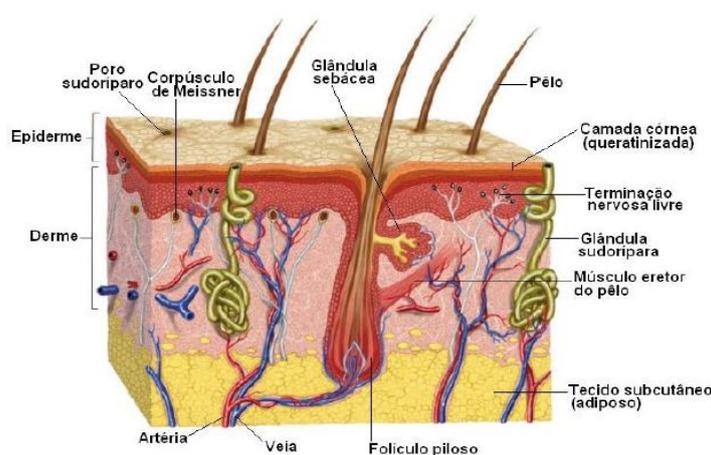
equipamentos, procedimentos experimentais e técnicas analíticas empregadas. Segue a apresentação e discussão dos resultados dos experimentos realizados. Logo após, realiza-se o fechamento do trabalho com as principais conclusões, perspectivas para trabalhos futuros e referências da literatura científica consultada. Por fim, no apêndice, encontra-se o trabalho apresentado no XIV Simpósio Latino Americano de Polímeros (SLAP) e XII Congresso Ibero Americano de Polímeros (CIP), intitulado “Elaboração de filmes poliméricos baseados em agarose com a incorporação de Ciprofloxacina para a utilização como novos substitutos temporários de pele”, nessa ocasião foi apresentado à comunidade científica resultados parciais referentes a pesquisa.

2. REVISÃO DA LITERATURA

2.1 A Pele

A pele, chamada de tegumento ou cútis, é um órgão complexo e heterogêneo, responsável pelo revestimento do organismo humano que isola os componentes orgânicos do meio externo (MORAES et al., 2013). Ela é considerada o maior órgão do corpo humano, ocupando em média uma área de 2 m², o que corresponde a cerca de 16% do peso corporal total. Constitui-se pela epiderme, a derme e uma camada subcutânea, a hipoderme (Figura 1). Desempenha três funções principais: transmissão de estímulos e sensações, regulação da temperatura corporal e proteção (PAILLER-MATTEI et al., 2007; RIBEIRO, 2010).

Figura 1. Representação esquemática da pele.



Fonte: CAMARGO, 2006.

Dentre as três funções principais que a pele possui, a função barreira se destaca como a mais importante, pois ela atua como uma fronteira ativa que se interpõe entre o organismo e o ambiente. A estrutura responsável por essa função é a epiderme, por meio de sua camada mais externa, o estrato córneo, que tem como função evitar a desidratação excessiva, mantendo a pele hidratada. A epiderme também é responsável pela proteção contra agressões mecânicas, medida através da deformação reversível de sua estrutura, pela limitação de absorção de substâncias, controle de absorção da radiação ultravioleta (UV), síntese de vitamina D, regulação da temperatura corporal e estabilização da pressão sanguínea. No aspecto sensorial, a mesma equilibra as

sensações de frio, calor e dor, permitindo ainda a diferenciação dos indivíduos por suas características peculiares (RIBEIRO, 2010).

Ao analisarmos a epiderme de forma microscópica podemos dividir suas camadas da seguinte maneira:

- **Camada basal:** encontra-se localizada no interior da epiderme, sendo formada por células que se dividem continuamente, originando as demais que constituem a epiderme. Nessa camada encontram-se os melanócitos, células responsáveis pela proteção solar natural e pela produção das células de Langherans que atuam no sistema imunológico da pele (PEREIRA, 2011).
- **Camada espinhosa:** situada acima da camada basal, ela é conhecida como camada Malphigiana, sua estrutura consiste em células enfileiradas, ligadas entre si pelas desmossomas, que se apresentam de forma achatada em sua superfície, e poliédrica em seu interior (PEREIRA, 2011).
- **Camada granulosa:** localizada entre a camada espinhosa e a córnea, é responsável pela síntese da bicamada lipídica que formam a camada córnea. Atua na prevenção contra a desidratação das camadas subjacentes da epiderme, além de formar uma barreira oferecendo resistência à absorção percutânea (PEREIRA, 2011).
- **Camada córnea:** origina-se pelo processo de diferenciação celular pelo qual passam os queratinócitos, ela é a camada superior da epiderme (PEREIRA, 2011).

A derme é formada por fibras de colágeno e elastina, podendo ser dividida em duas partes: a derme papilar que se encontra em contato direto com a epiderme e a derme reticular, que se encontra abaixo da derme papilar. A derme é considerada um tecido resistente, devido às fibras colágenas lhe conferirem maior resistência, formando uma rede que sustenta outras estruturas como pelos, unhas, glândulas sudoríparas e sebáceas. Ela também é considerada um tecido elástico, pois as fibras elásticas, presentes em sua estrutura, permitem a deformação da pele, que retorna ao estado original quando suspensa a tensão aplicada (PEREIRA, 2010). Além disso, ela proporciona resistência física ao corpo frente às agressões mecânicas, fornece nutrientes à epiderme, abrigo para os apêndices cutâneos, como também os vasos sanguíneos e os linfáticos (VIEIRA, 2013).

A hipoderme é a camada mais profunda, ela também é conhecida como camada subepidérmica. Sua estrutura é formada por células de espessura bastante variável, que

são preenchidas por material graxo. Sua principal função é dar apoio e ligar a epiderme e a derme ao restante do corpo, permitindo que elas deslizem livremente sobre as outras estruturas do organismo. Dentre as outras funções, podemos citar a regulação e estabilização da temperatura corporal, o acúmulo de energia para a realização das funções biológicas, a proteção do organismo contra agressões mecânicas e facilitação para a mobilidade da pele em relação às estruturas subjacentes (PEREIRA, 2010).

Além das funções exercidas através das suas três camadas principais, a pele exerce o papel de nutrição e regulação da temperatura corporal, por intermédio dos vasos sanguíneos, que realizam alterações contínuas dos mecanismos de vasodilatação e vasoconstrição dos capilares em função da situação ambiental (RIBEIRO, 2010). Já as sensações tais como alteração na temperatura e pressão, tato e dor, são detectadas por nervos específicos presentes na derme, que recebem a todo instante, diversos tipos de estímulos do ambiente, transmitindo ao cérebro, onde serão traduzidos em sensações (PAILLER-MATTEI et al., 2007; RIBEIRO, 2010).

Em caso de ocorrência de algum tipo de dano, lesão ou destruição da pele, faz-se necessária uma rápida intervenção, a fim de se garantir a restituição de suas funções e evitar um desequilíbrio fisiológico, que possa levar a morte do indivíduo. A principal causa de perda de integridade cutânea são as queimaduras, as demais incluem úlceras e traumas (RODRIGUES, 2012). Nesse contexto é importante destacar o aprimoramento no desenvolvimento de curativos interativos e bioativos que possam ser usados para o tratamento de lesões cutâneas, dentre as quais as queimaduras, destacando-se por atingirem não somente o aspecto físico do paciente, mas também o aspecto social e emocional.

2.2 Queimaduras

De acordo com a Sociedade Brasileira de Queimaduras, elas são definidas como feridas traumáticas causadas, na maioria das vezes, por agentes térmicos, químicos, elétricos ou radioativos. Atingem tecidos de revestimento do corpo humano, ocasionando a destruição parcial ou total da pele e seus anexos (pelos, unhas, glândulas, nervos e vasos), podendo atingir camadas mais profundas, como o tecido celular subcutâneo, músculos, tendões e ossos (FILHO et al., 2012). Estima-se que em torno de um milhão de pessoas sejam acometidas por algum tipo de queimadura no Brasil a cada

ano, porém uma avaliação epidemiológica mais concreta ainda é reduzida (MARQUES et al., 2014). Os acidentes por queimaduras estão entre as principais causas externas de morte registradas no país, perdendo apenas para os acidentes automobilísticos e homicídios (TAVARES e HORA, 2011).

Segundo Lima et al. (2014) as queimaduras estão entre os acidentes mais comuns na infância, representando a principal causa de óbito por acidentes domésticos, além de deixarem graves sequelas funcionais e psicológicas. Atualmente, as queimaduras representam um desafio para as equipes de unidades de emergência e terapia intensiva, em decorrência da gravidade e complexidade de tratamento. Queimaduras mais extensas (com mais de 30% de superfície corpórea queimada) promovem a liberação local de citocinas e mediadores inflamatórios que desencadeiam uma reação sistêmica, que progride com aumento da permeabilidade capilar, vasoconstrição esplâncnica e periférica, hipoperfusão de órgãos, aumento do gasto metabólico basal, redução da resposta imune, entre outras consequências, levando a distúrbios hidroeletrólíticos, desnutrição, infecção e demais ameaças à vida.

As queimaduras podem se classificar de acordo com a sua espessura em (MAES et al., 2012):

- **Superficial:** onde apenas a epiderme é acometida.
- **Parcial superficial:** atingindo tanto a epiderme quanto a derme papilar.
- **Parcial profunda:** afeta camadas mais profundas da derme.
- **Espessura total:** atingem todas as camadas da pele, podendo até chegar a estruturas ósseas.

De um modo geral as queimaduras também são classificadas em graus de 1 a 3 de acordo com a estrutura e a quantidade de tecido atingido. Na Tabela 1 a seguir é possível observar as peculiaridades de cada grau.

Tabela 1. Classificação das queimaduras quanto a sua gravidade.

| Nível da queimadura | Estrutura atingida | Características |
|----------------------|--------------------|--|
| Primeiro grau | Epiderme | Ocorre hiperemiada, a lesão é dolorosa, inchada, e não ocorre formação de bolhas. |
| Segundo grau | Derme | Ocorrem lesões profundas, formando bolhas na pele, com base vermelha ou branca, contendo um líquido claro e espesso, dolorosas ao tato. |
| Terceiro grau | Hipoderme | Ocorrem lesões mais profundas, na qual a área queimada perde a sensibilidade ao tato. Ocasionalmente formam-se bolhas, e normalmente são indolores, porque as terminações nervosas da pele são destruídas. |

Fonte: ROCHA et al., 2012.

Após o processo de lesão na pele, inicia-se o processo de cicatrização, onde ocorre a interação de células estromais e circulatórias, que são ativadas por diversos fatores biológicos. Esse processo envolve três fases distintas, independentes e complexas: a inflamatória, a proliferativa e a de maturação ou remodelação (ANDRADE et al., 2013).

A ocorrência de queimaduras na superfície do corpo humano resulta na perda ou comprometimento da barreira de proteção da pele, que acaba interferindo no equilíbrio entre a microbiota normal e o tecido sadio, o que tende a evoluir para danos maiores, caso ocorra alguma falha no processo cicatricial. Dessa forma, o paciente torna-se susceptível a invasões de microrganismos patogênicos por via linfática ou sanguínea, possibilitando infecções nestes locais (RANPEL et al., 2011).

As infecções são as causas mais comuns de morte após lesão por queimadura, podendo ser definida como a ação de invasão, desenvolvimento e multiplicação de micro-organismos em um sistema biológico (OLIVEIRA e SERRA, 2011).

2. 2. 1 Principais bactérias presentes em queimaduras

As queimaduras na pele possibilitam a geração de um meio ambiente propício ao crescimento de micro-organismos, devido a fatores como disfunções importantes do sistema imune, possibilidade de translocação gastrointestinal, hospitalização prolongada, procedimentos diagnósticos e terapêuticos invasivos. No período de 24 horas é possível que uma única bactéria se transforme em uma colônia num total de 10

bilhões de células (LIMA et al., 2014). Esses micro-organismos podem se proliferar apenas na superfície da queimadura ou se instalar na corrente sanguínea, ocasionando bacteremia.

A bacteremia pode ser definida como a disseminação de agentes infecciosos pela corrente sanguínea, gerando uma situação de alto risco para os pacientes queimados que se encontram em um ambiente hospitalar (SERRA e SERRA, 2011). Dependendo de sua gravidade fisiopatológica, as condições para o tratamento são dificultadas, prolongando seu tempo de internação. Sintomas como temperatura corporal acima de 38 °C ou abaixo de 36 °C, leucócitos totais acima de 12.000 células/mm ou abaixo de 4.000 células/mm, taxa de bastonetes acima de 10%, taquicardia, hipotensão e oligúria, devem ser observados com atenção, pois representam suspeita desse tipo de infecção (RENPEL et al., 2011).

Outro fator relacionado com a proliferação bacteriana são as moléculas sintetizadas nas feridas produzidas por queimaduras, tais como fibronectina, fibrinogênio, colágeno e muitas outras, que são expostas na superfície da lesão. Muitas espécies bacterianas possuem receptores específicos para tais moléculas, por isso as feridas queimadas são facilmente colonizadas por bactérias (MACEDO e SANTOS, 2006).

Diversos estudos demonstram que o *Staphylococcus aureus* e *Pseudomonas aeruginosa*, são os principais patógenos encontrados tanto em amostras de sangue de pacientes queimados que apresentam evidências de bacteremia, como também na própria superfície da ferida da ocasionada por queimadura (MACEDO e SANTOS, 2006; SILVA et al., 2009; RENPEL et al., 2011).

A espécie de bactérias *S. aureus* pertence à família *Micrococaceae* e ao gênero *Staphylococcus*, morfológicamente classificadas como cocos gram-positivos agrupados em formato de cachos de uva; quanto ao metabolismo podem ser aeróbios ou anaeróbios facultativos; as suas colônias possuem pigmentos que variam de branco a amarelo, elas possuem ainda a capacidade de degradar moléculas de peróxido de hidrogênio, sendo por isso consideradas catalase positivo. Os fatores de virulência estão presentes na superfície celular que é composta de peptidoglicano, ácido teóico, proteína A, toxinas e a presença de enzimas onde se destaca a enzima coagulase, pela qual a diferencia das demais espécies de estafilococos (NASCIMENTO, 2013).

As bactérias que pertencem ao gênero *P. aeruginosa* são bacilos gram-negativos, não fermentadores e considerados oportunistas causando infecções em pessoas

imunodeprimidas (OLIVEIRA et al., 2009). *P. aeruginosa* é encontrada em diversos ambientes, principalmente em hospitais, sendo considerado um patógeno de grande relevância no que diz respeito a infecções hospitalares. Essa bactéria se desenvolve em meios de cultura simples devido a sua versatilidade nos requerimentos energéticos e nutricionais. Sua patogenicidade deve-se principalmente à resistência adquirida em relação aos antibióticos tornando difícil sua erradicação. Inicialmente, a infecção por *P. aeruginosa* requer alteração no sistema de primeira linha de defesa, sendo resultado de interrupção nas barreiras cutâneas ou das mucosas (OLIVEIRA e SERRA, 2011).

Apesar do crescente número de pesquisas e modernização no que diz respeito ao tratamento de pacientes queimados, as infecções ainda permanecem como um obstáculo a ser superado, representando umas das principais causas de óbito deste tipo de paciente (OLIVEIRA e SERRA, 2011).

O tratamento das queimaduras comumente é iniciado pela assepsia do local seguindo-se da aplicação de alguma medicação de formulação tópica e se necessário a aplicação de um curativo, cujo componente primário deve oferecer condições ideais para a reepitelização, que também deve permitir ser inspecionada a ferida a cada 48 horas para avaliar o processo de cicatrização e aparecimento de infecções (MOSEER et al., 2013).

Atualmente, existe um debate contínuo, com relação a uma busca para identificar quais curativos propiciam os melhores resultados e menores custos, com isso, novas tecnologias têm sido desenvolvidas com esse intuito, em que a principal delas é a produção de substitutos cutâneos feitos a partir de materiais sintéticos ou naturais.

Nesse contexto, é possível encontrarmos no mercado, substitutos cutâneos sintetizados a partir de polímeros naturais como a quitosana (YÁÑEZ et al., 2014) e a celulose bacteriana (NOIA, 2009), membranas dérmicas produzidas a partir de colágeno bovino e membranas amnióticas (BARRA e RODRIGUES, 2014; PAGGIARO et al., 2012).

2.3 Substitutos cutâneos

A primeira escolha para a cobertura cutânea é o autoenxerto de pele, obtido por meio de áreas do paciente que não foram queimadas, entretanto, em situações em que se torna necessário um tecido de melhor qualidade, mais semelhante à derme saudável, os

substitutos cutâneos podem ser utilizados, de forma a regenerar uma neoderme de características histológicas semelhantes à derme normal, sobre a qual se irá assentar o enxerto epidérmico. Outra situação em que os substitutos cutâneos têm importante papel é nos pacientes com grandes áreas queimadas, cuja área doadora é insuficiente para cobrir os locais onde ocorreu a queimadura (WUNDERLICH et al., 2011).

Os substitutos cutâneos vêm sendo vastamente estudados e aprimorados ao longo dos últimos anos. Desde a sobreposição de aloenxertos de animais até a cultura de queratinócitos autólogos, muitos materiais foram produzidos visando à maior semelhança com a pele humana. Segundo a classificação de substitutos de pele sugerida por Kumar (2008), eles podem ser:

- **Classe I – Curativos temporários impermeáveis:** não têm nenhum componente epidérmico e são essencialmente impermeáveis. Agem como barreira mecânica à invasão bacteriana e reduzem a perda líquida por evaporação.
- **Classe II – Substitutos de pele duráveis de camada única:** epidérmicos e dérmicos.
- **Classe III – Substitutos de pele complexos:** utilizam engenharia tecidual.

Segundo Ferreira et al. (2011), o substituto cutâneo considerado ideal deve possuir propriedades comparáveis às da pele humana, como exposto no Quadro 1 a seguir.

Tabela 2. Propriedades do substituto dermoepidérmico ideal.

| |
|---|
| Suportar hipoxia |
| Ampla disponibilidade |
| Presença de componentes dérmicos e epidérmicos |
| Reologia comparável à da pele |
| Resistência à infecção |
| Custo/benefício adequado |
| Facilidade de preparação |
| Baixa antigenicidade |
| Facilidade de armazenamento |
| Resistência ao cisalhamento |

Fonte: FERREIRA et al., 2011.

Existe, no mercado mundial, uma diversidade de substitutos cutâneos com diferentes aplicações, vantagens e desvantagens, que devem ser escolhidos para cada situação clínica e conforme a disponibilidade de material. Dentre eles podemos citar:

- **Produtos biológicos:** membrana amniótica, membranas de celulose bacteriana e matriz dérmica bovina.
- **Produtos sintéticos:** membrana ou filmes de polímeros sintéticos (Opsite®, Hydrofilm®, Tegaderme®); biossintético (Nexfill® – Fibrocel); camada de biocelulose e Veloderm®; camada de biocelulose derivada de cana-de-açúcar, espuma ou spray polimérico (Mepilex® simples ou com prata, Mepilex Ag®, indicados para tratamento de lesões parciais da pele).

Nesse contexto os biomateriais, surgem como uma ferramenta importante no estudo e desenvolvimentos de substituto cutâneos, possivelmente eficazes, biocompatíveis e de baixo custo.

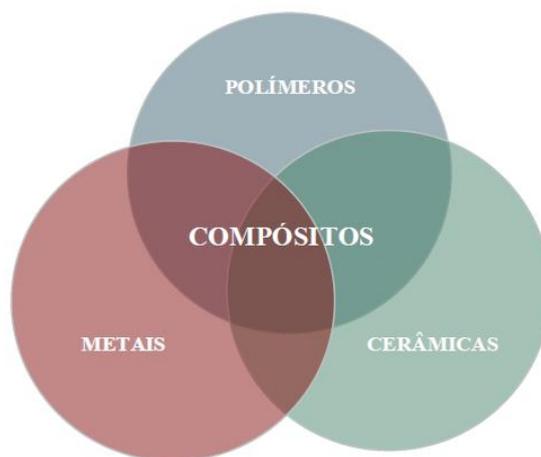
2. 4 Biomateriais

Biomaterial é um termo utilizado para indicar os materiais constituintes de partes de implantes médicos, dispositivos extracorpóreos e descartáveis que são utilizados em medicina, odontologia e medicina veterinária, em todos os aspectos relacionados ao cuidado com a saúde (RECOUVREUX, 2008). De forma mais específica, os biomateriais estão relacionados a dispositivos médicos, sobretudo àqueles que são implantados de forma temporária ou permanente no corpo humano. Esses materiais diferenciam-se de outros por conter uma combinação de propriedades mecânicas, químicas, físicas e biológicas que torna viável sua utilização no corpo humano (PEREIRA et al., 2009). Eles foram definidos na Conferência do Instituto Nacional de Desenvolvimento de Consenso em Saúde como “Qualquer substância (outra que não droga) ou combinação de substâncias, sintética ou natural em origem, que possa ser usada por um período de tempo, completa ou parcialmente como parte de um sistema que trate, aumente ou substitua qualquer tecido, órgão ou função do corpo” (RODRIGUES, 2013).

Um biomaterial tem que ter a capacidade de apresentar uma resposta adequada a uma situação específica, além de ser aceito pelos tecidos próximos e pelas demais partes do corpo, ou seja, o material deve ser biocompatível, não devendo produzir irritação, infecções o que pode levar a rejeição (SHIRANE et al., 2010).

Os biomateriais são formados por quatro classes de materiais, conforme ilustra a Figura 2 apresentada a seguir.

Figura 2. Composição dos Biomateriais.



Fonte: ONOFRE, 2014

Podemos descrever as classes da seguinte forma:

- **Ligas metálicas:** combinações de elementos metálicos. Um bom exemplo de um Biomaterial metálico são os *stentes* utilizados para desobstrução de veias em cirurgias cardíacas (RODRIGUES, 2013).
- **Polímeros:** material orgânico ou inorgânico de alto peso molecular, composto por um conjunto de cadeias poliméricas, sendo que cada uma dessas trata-se de uma macromolécula que possui uma estrutura onde há repetição de unidades chamadas “meros” (CANDIAN, 2007). Eles são vastamente utilizados nas áreas ortopédicas, odontológicas, cardiovascular e de engenharia de tecidos (RODRIGUES, 2013).
- **Cerâmicas:** compostos por elementos metálicos e não metálicos. Sua principal utilização está na ortopedia e odontologia (NIEMELÄ et al., 2005).

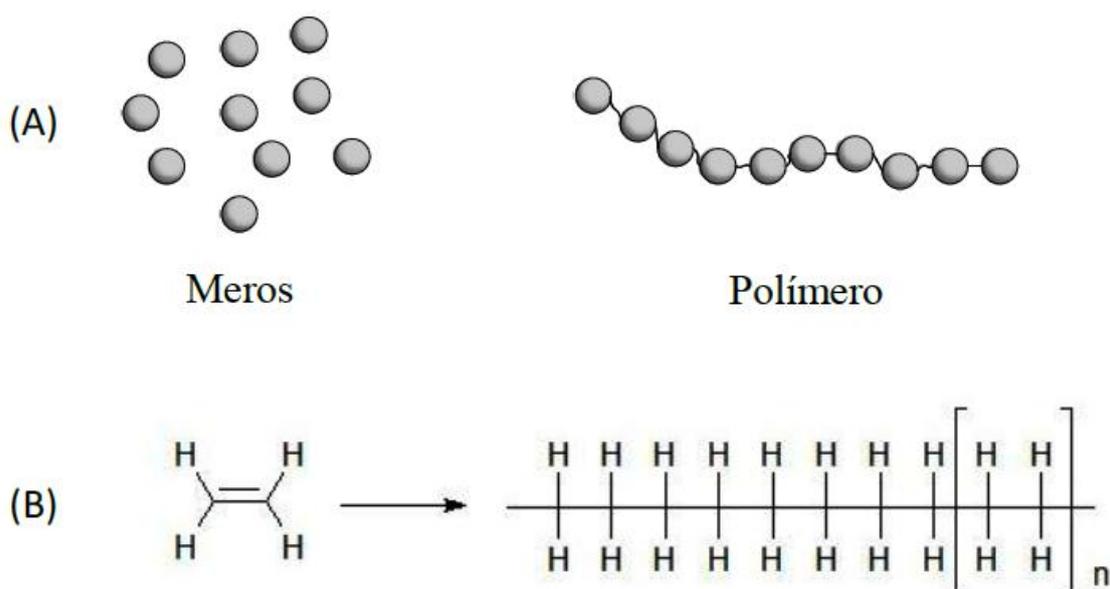
- **Compósitos:** materiais obtidos pela combinação de dois ou mais materiais ou fases, com o objetivo de aproveitar as características desejadas de cada material. Pode-se citar as seringas como exemplo desse tipo de material (NIEMELÄ et al., 2005).

Para a utilização de Biomateriais como substitutos cutâneos, a classe comumente mais utilizada tem sido a dos materiais poliméricos.

2. 4. 1 Polímeros

De acordo com a União Internacional de Química Pura e Aplicada (IUPAC), polímeros são substâncias compostas de moléculas caracterizadas pela múltipla repetição de uma ou mais espécie de átomos ou grupos de átomos (unidades constitucionais) ligados entre si em quantidades suficientes para fornecer um conjunto de propriedades que não variam notavelmente com a adição ou remoção de uma ou de algumas (poucas) das unidades constitucionais, podendo ser obtidos de forma sintética ou natural (Figura 3) (PAOLI, 2008).

Figura 3. (A) União dos meros para a formação do polímero, (B) Estrutura química do etileno seguida da estrutura química do polietileno.



Fonte: ONOFRE, 2014.

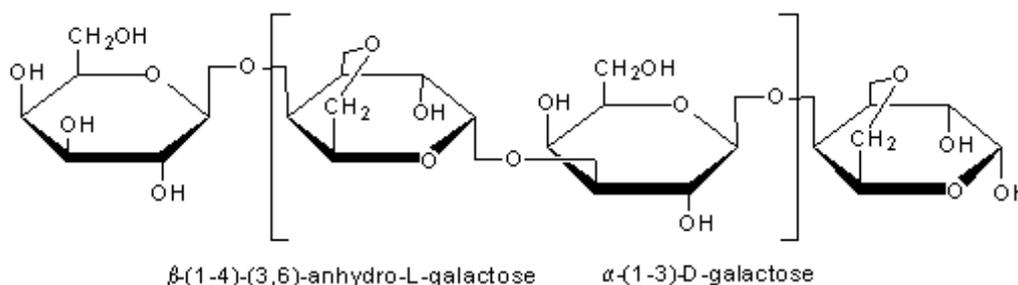
Os polímeros sintéticos e naturais fazem parte do nosso cotidiano e representam uma das classes de materiais mais versáteis que existem, apresentando inúmeras aplicações, dentre as quais, destaca-se sua utilização no setor farmacêutico, alimentício e industrial. Atualmente seu uso na composição de Biomateriais, tem sido de grande auxílio no tratamento e reabilitação de pacientes acometidos por diversos tipos de enfermidades (VILLANOVA et al., 2010).

Hoje em dia os polímeros têm sido bastante empregados para a utilização como sistema de liberação de fármacos. Por definição, Sistema de Liberação de Fármaco (SLF) ou Drug Delivery System (DDS) é um sistema de administração desenvolvido para prolongar o tempo de liberação do fármaco no organismo, sustentar sua concentração plasmática e controlar a localização temporal e espacial das moléculas *in vivo*, por meio da aplicação de princípios biológicos e químicos. Dessa forma, alterações cíclicas na concentração são eliminadas e a disponibilidade biológica do fármaco é aumentada. Pode ser conseguida também uma redução da toxicidade, supressão de reações adversas e diminuição do número de doses administradas diariamente. Além de apresentarem liberação do fármaco, a fabricação dos SLF's requer muitas vezes o emprego de equipamentos, processos e componentes específicos (VILLANOVA et al., 2010).

Dentre os polímeros naturais com potencial uso para SLF e como substituto cutâneo destacamos a agarose devido às suas propriedades físicas e químicas descritas a seguir.

2. 5 Agarose

A agarose é um polissacarídeo, termossensível, rico em grupos hidroxilas (OH) e não possui citotoxicidade. É um biopolímero linear extraído de algas vermelhas, constituído por alterações repetitivas de unidades de 1,3-d-galactose e 3,6-anidro-1-galactose (Figura 4). Quando aquecido em água a 90 °C, o pó da agarose se dissolve, assumindo a forma de gel ou filme quando a temperatura atinge cerca de 35 °C. Ao ser aquecido novamente com temperaturas próximas a 90 °C a agarose volta ao seu estado líquido (SU et al., 2013).

Figura 4. Estrutura química da agarose.

Fonte: SU et al., 2013.

A agarose possui aplicações em diversas áreas, podendo ser utilizada na indústria alimentícia, farmacêutica e cosmética. No campo biomédico, a agarose tem sido extensivamente utilizada e dentre as suas utilizações pode-se citar:

- Gel para eletroforese, com o intuito de identificar moléculas, tais como, DNA, proteínas, pontos quânticos, dentre outros (NOVAK et al., 2011; LANDGRAF et al., 2012);
- Gel para colunas cromatográficas, usada para a purificação de proteínas e outras moléculas (MELO e CORREIA, 2010);
- Meio de cultura para o crescimento de micro-organismos (FARIA et al., 2014).

Atualmente a utilização da agarose tem sido bastante expandida, diferentes formulações tem sido criadas para serem aplicadas em sistemas de Drug Delivery, como exemplo cita-se o trabalho de Mehrotra et al. (2012), que desenvolveram um hidrogel de multicamadas biodegradáveis de agarose e a este incorporaram um anti-mitótico (1- β -D-arabinofuranosilcitosina (ara-C)) tendo como propósito a utilização deste sistema para auxiliar o tratamento da regeneração axonal, *in vitro*. Os resultados obtidos demonstraram que houve liberação do anti-mitótico ao nível suficiente para inibir a formação de fibroblastos. O uso da agarose também tem sido aplicado à terapia celular (VINEREAN et al., 2011), como também, na imobilização de biomoléculas ou nanopartículas para a produção de biossensores (RAPHAEL, 2010). Outro uso importante da agarose tem sido sua aplicação na engenharia de tecidos, devido às suas propriedades mecânicas especiais, biocompatibilidade e natureza bioinerte (KHANARIAN et al., 2012).

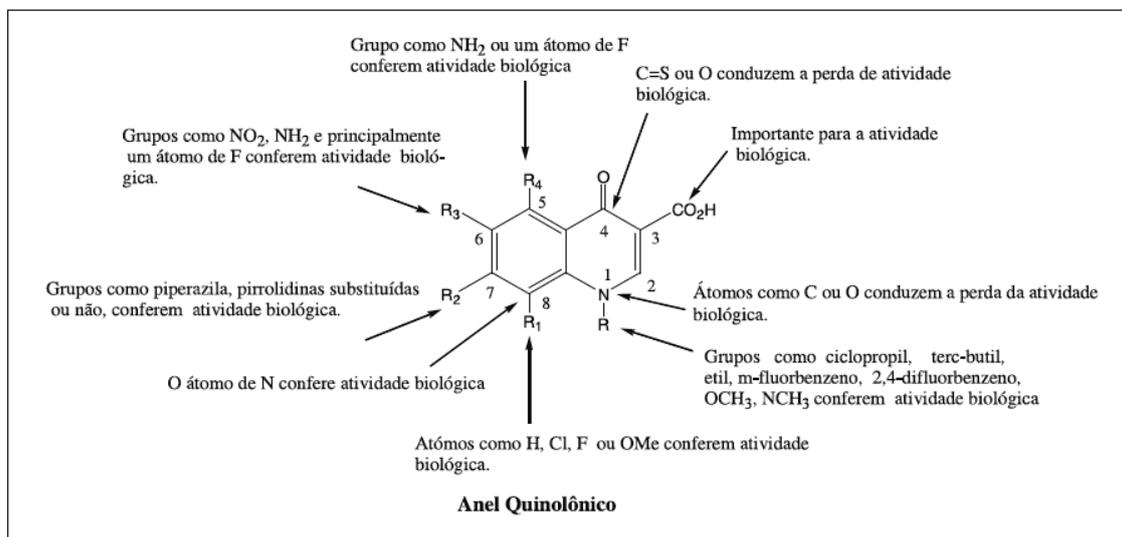
Na literatura, é possível encontrar o uso da agarose com a formulação de filme polimérico para diversos tipos de aplicações. Alguns estudos demonstraram a possibilidade de incorporar a matriz de agarose, na forma de filme, certas substâncias a fim de melhorar suas propriedades físicas e químicas. Onofre (2014) e Rhim et al. (2013) desenvolveram filmes de agarose, nos quais foram incorporadas nanopartículas de prata, com o intuito de introduzir propriedades antimicrobianas ao polímero. Pasquine et al. (2012) desenvolveram filmes de agarose incorporando nanocristais de celulose, melhorando assim suas propriedades mecânicas. Giménez et al. (2013) elaboraram formulações filmogênicas com incorporação de extrato de chá verde. Su et al. (2013) realizaram a dopagem da agarose com dopamina a fim de promover uma superfície ideal para a utilização desse sistema como scaffold para cultura de células.

Nessa pesquisa a Ciprofloxacina foi incorporada na agarose, com o intuito de adicionar ao polímero, características antimicrobianas.

2.6 Ciprofloxacina

O desenvolvimento e aprimoramento dos antibióticos representou a maior evolução dos tratamentos farmacoterápicos dos últimos 50 anos. Hoje em dia existe um número enorme de antibióticos que possuem ação para os mais diferentes patógenos (BHALERAO e ROTE, 2012). Atualmente uma importante classe de antibióticos sintéticos, as fluorquinolonas, têm sido largamente estudada, como pode ser observado na Figura 5 a seguir, na qual apresenta-se os principais grupos de ação deste antibacteriano.

Figura 5. Identificação dos sítios de ação das quinolonas.



Fonte: SOUZA et al., 2004.

As fluorquinolonas tiveram origem nas quinolonas, antibióticos que em sua primeira geração, possuíam ação limitada apenas contra bactérias gram-negativas. O principal representante desta geração de quinolonas é o Ácido Nalidíxico que foi descoberto em 1962, era utilizado no combate a infecções no trato urinário leves, possuindo ação apenas contra enterobactérias (BAPTISTUCCI, 2012).

A partir da segunda geração das quinolonas a ação das quinolonas foi incrementada, passando a ter ação contra um maior número de patógenos gram-positivos, dentre eles pneumococos e estafilococos, aumentando o seu espectro de ação para o tratamento de infecções urinárias pielonefrites, gonorréia e infecções por *P. aeruginosa* (CAZEDEY, 2009).

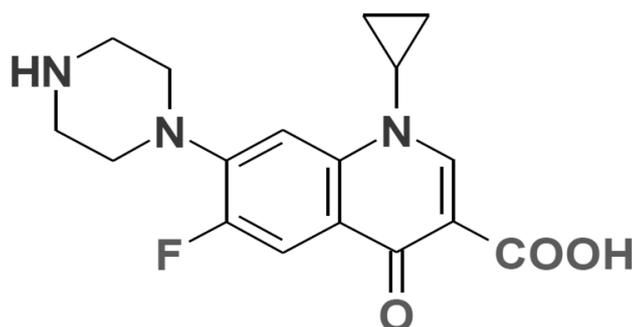
Na década de 70 foi incluído um átomo de Flúor na posição R₆ e o anel piperazínico na posição R₇ do anel quinolônico, surgindo assim as quinolonas de terceira geração, aumentando amplamente o espectro de ação, para bactérias gram-negativas e gram-positivas, passando a ser chamada também de fluorquinolona. Dentre as representantes desta geração destacam-se a Norfloxacin e a Ciprofloxacina (SOUZA et al., 2004).

O desenvolvimento da quarta geração foi marcado pela adição do grupo metoxi na posição R₈ e do grupo metil no anel piperazílico. O principal representante desta

geração é a Gatifloxacina, possuindo um largo espectro de ação contra todas patógenos gram-positivos e gram-negativos (SILVA et al., 2014).

A Ciprofloxacina (Figura 6) pertence à terceira geração das fluorquinolonas é um composto polar e não volátil (SILVA et al., 2014). Segundo a IUPAC sua identificação é cloridrato do ácido 1-ciclopropil-6-fluoro-1,4-diidro-4-oxo-7-(1-piperazinil)-3-quinolino carboxílico, possui um amplo espectro de ação, sendo utilizadas nos tratamentos de infecções urinárias, respiratórias, gastrointestinais, além de infecções na pele, ossos e articulações. (BAPTISTUCCI, 2012). Apresenta-se em forma de pó cristalizado, totalmente solúvel em água, pouco solúvel em metanol e ácido acético glacial, muito pouco solúvel em etanol e praticamente insolúvel em acetona, acetato de etila e cloreto de metileno (SOUZA, 2004).

Figura 6. Estrutura química da Ciprofloxacina.



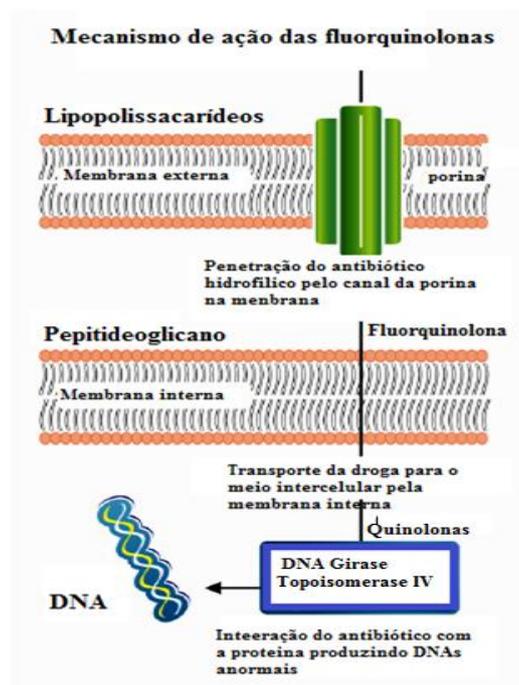
Fonte: SAHOO et al., 2011.

A Ciprofloxacina possui um amplo espectro de ação, apresentando rápida ação bactericida, não somente na fase proliferativa, mas também na fase vegetativa, possui eficácia contra praticamente todos os patógenos gram-negativos, incluindo *P. aeruginosa*. Além disso, mostra bastante atividade contra microrganismos gram-positivos, como *estafilococos* e *estreptococos*, apesar de possuir menor ação contra os anaeróbios (CASEDEY, 2009).

Em seu mecanismo de ação a Ciprofloxacina, inibe inicialmente a atividade da DNA girase, em bactérias gram-positivas ou topoisomerase II, em gram-negativas (Figura 7), enzimas que possuem como principal função a replicação celular da bactéria. A função da DNA girase é tornar a molécula de DNA compacta e biologicamente ativa, a Ciprofloxacina interage nesse complexo, DNA-girase = DNA-bacteriano, criando

modificações na conformação, com isso inibindo a atividade enzimática. Ao inibir essa enzima, a molécula de DNA passa a ocupar grande espaço no interior da bactéria e suas extremidades livres promovem uma síntese descontrolada de RNA mensageiro e de proteínas, promovendo a morte das bactérias. A Ciprofloxacina também forma um complexo inibindo a topoisomerase IV, porém não se tem conhecimento de como este fato contribui para a ação antibacteriana (BAPTISTUCCI, 2012).

Figura 7. Representação esquemática do mecanismo de ação das fluorquinolonas.



Fonte: LIU et al., 2014

Em sua formulação como de cloridrato, a Ciprofloxacina, vem sendo utilizada contra o bioterrorismo, sendo o único fármaco aprovado pela FDA, para ser utilizado em vítimas de inalação do antraz (SOUZA et al., 2004).

De maneira geral a Ciprofloxacina é bem absorvida pelo trato gastrointestinal superior. A sua biodisponibilidade é superior a 50% e o pico sérico, no qual é atingido a concentração máxima no organismo, em 1 a 3 horas após a administração. Os alimentos não reduzem substancialmente a absorção, mas retardam o pico da concentração sérica. A ligação proteica se encontra normalmente entre 15 e 30%. A o ser administrada oralmente a Ciprofloxacina é excretada na urina e bile com altas concentrações (VASCONCELOS, 2006).

Atualmente no mercado farmacêutico a Ciprofloxacina é vinculada na forma de comprimido, solução oftalmológica e solução injetável. Devido a alguns problemas, tais como efeitos colaterais, intervalos de administração inconvenientes e doses repetidas, nos últimos anos tem se buscado novas formas de veiculação dos fármacos em geral. Nesse contexto, a presente pesquisa busca apresentar uma nova forma de possível veiculação da Ciprofloxacina, inserindo o fármaco na matriz polimérica da agarose, com o intuito de utilizar essa formulação como substituto cutâneo que possui propriedades bactericidas.

3. OBJETIVOS

3.1 Objetivo Geral

Desenvolver filmes poliméricos baseados em agarose e filmes de agarose com incorporação de Ciprofloxacina, que confirmam uma ação bactericida, e que apresentem propriedades para serem utilizados como um potencial substituto temporário de pele.

3.2 Objetivos Específicos

- Sintetizar filmes de agarose com e sem a Ciprofloxacina;
- Realizar a caracterização espectroscópica dos filmes sintetizados com e sem a Ciprofloxacina na região do UV-Vis, Infravermelho e através de Raman;
- Estudar a morfologia dos filmes por meio de Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV)
- Caracterizar estruturalmente os filmes e seus componentes por meio de Difração de Raios-X (DRX);
- Avaliar as propriedades mecânicas, físicas e químicas dos filmes poliméricos com e sem a Ciprofloxacina;
- Avaliar a atividade antimicrobiana filmes de agarose com a Ciprofloxacina;
- Investigar a resistência dos filmes poliméricos frente a processos fotobiodegradáveis;
- Verificar a estabilidade fotoquímica e química dos filmes.

4 MATERIAIS E MÉTODOS

4.1 Síntese dos filmes poliméricos

Os filmes poliméricos baseados em agarose foram sintetizados a partir de uma adaptação de Piermaria et al. (2009), utilizando o sistema de “*casting*,” que é a secagem de uma solução filmogênica, onde ocorre a evaporação do solvente de forma lenta a uma temperatura controlada. Como solvente foi utilizada água destilada e como agente plastificante o glicerol, com posterior adição da Ciprofloxacina, gerando assim dois tipos de filmes:

- Filmes de agarose
- Filmes de agarose incorporados com Ciprofloxacina

4.1.1 Filmes de agarose

Em nosso grupo de pesquisa já foram desenvolvidos alguns trabalhos utilizando quantidades de agarose que variaram entre 1 e 0,3 g. Nesse trabalho pretendeu-se utilizar uma quantidade menor de agarose afim de aperfeiçoar algumas de suas características, tais como, espessura, transparência, flexibilidade e aderência. Para tanto, na preparação dos filmes poliméricos sintetizados nessa pesquisa, utilizaram-se três quantidades diferentes de agarose (agarose D-1 LOW EEO, Pronadisa) e glicerol P.A. (Tabela 3), dissolvidos em 30 mL de água destilada. Essa mistura foi aquecida em micro-ondas por aproximadamente 2 minutos, em seguida foi adicionada em placa de Petri com 90 cm de diâmetro e uma área de 50,5 cm², e levados a uma estufa de secagem por 18 horas.

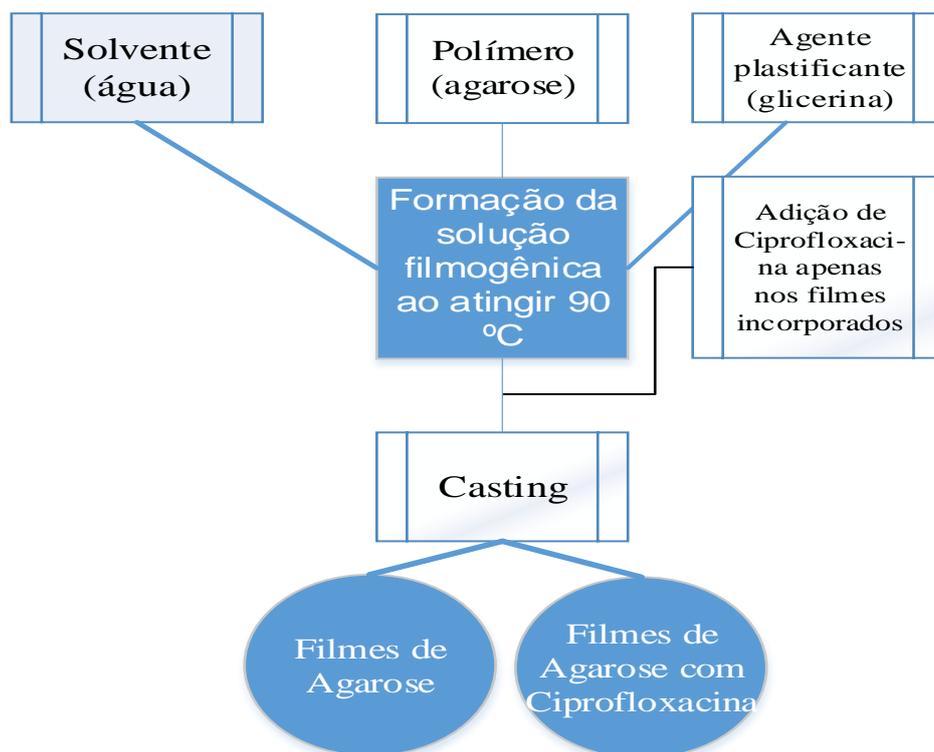
Tabela 3. Quantidade de agarose, glicerol e água empregadas na síntese dos filmes.

| Quantidade de agarose (g) | Agarose por área da placa (mg/cm ²) | Glicerol (µL) | Água (mL) |
|---------------------------|---|---------------|-----------|
| 0,25 | 4,95 | 250 | 30 |
| 0,1 | 1,98 | 100 | 30 |
| 0,05 | 0,99 | 50 | 30 |

4. 1. 2 Filmes de agarose incorporados com Ciprofloxacina

Para a obtenção desses filmes foi realizado o mesmo procedimento de produção dos filmes com 1,98 mg de agarose/cm², sendo acrescidos 2,2 mg de Ciprofloxacina com a dissolução da agarose e da glicerina na água ainda aquecidas, o que corresponde a 5% m/m do fármaco nos filmes poliméricos (Figura 8). A escolha da quantidade da Ciprofloxacina que foi incorporada se refere à concentração da Neomicina, um dos principais antibióticos utilizados em queimaduras. Comercialmente veiculada em sua forma tópica, a Neomicina possui uma concentração de 5 mg/g, o que equivale a 5% de sua formulação final. A Ciprofloxacina (Hemifarma) foi obtida através da Farmácia Escola Carlos Drummond de Andrade, vinculada ao departamento de Ciências Farmacêuticas da Universidade Federal de Pernambuco – UFPE.

Figura 8. Esquema da síntese dos filmes poliméricos com e sem a incorporação da Ciprofloxacina.



4. 2 Determinação das propriedades morfológicas

4. 2. 1 Espessura

A espessura dos filmes foi determinada com auxílio de um paquímetro digital 6” (Zaas precision, de precisão 0,01 mm). As medidas foram realizadas para os dois tipos de filmes, em duplicata, tomando-se medida de 5 pontos diferentes de cada amostra, totalizando 10 medidas para cada tratamento. Os resultados foram expressos através da média das medidas de cada filme.

4. 2. 2 Transparência

Para determinação da transparência dos filmes poliméricos foi utilizada uma relação entre as medidas de absorbâncias em diferentes comprimentos de onda, obtidas pelo espectro na região do Ultravioleta Visível (UV-Vis), com a espessura dos mesmos de acordo com a Equação 1 (ALMEIDA et, al., 2013) em triplicata.

$$T = \frac{-\log A}{x} \quad \text{Equação 1}$$

Onde:

T = transparência

A= absorbância

x = espessura dos filmes em mm

4. 2. 3 Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV)

Para a aquisição de imagens por meio de Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV) é utilizado um feixe de elétrons de pequeno diâmetro que atinge a amostra gerando sinais de diversos tipos que podem ser coletados pelos detectores do equipamento. Nesta pesquisa utilizou-se um microscópio Modelo JSM 5900 – JOEL, instalado no Departamento de Física da UFPE. Para a realização das análises por meio de MEV, a princípio uma amostras de cada tratamento foi fixada com uma fita adesiva

no suporte para amostras do microscópio (stub) e em seguida as amostras foram metalizadas. Para a aquisição das fotomicrografias foi utilizada uma resolução de 1000x.

4. 3 Ensaios de interação com a água

4. 3. 1 Teor de umidade

O teor de umidade dos filmes foi avaliado através da medida de perda de peso. Para isso, amostras de cada filme, em triplicata, foram pesadas em balança analítica (Shimadzu AUY 220) e em seguida aquecidas em estufa de secagem (Nova Técnica NT513) a 105 ± 1 °C em tempos pré-estabelecidos de 15 min. As amostras foram transferidas para um dessecador até atingirem a temperatura ambiente, em seguida elas foram novamente pesadas, esse procedimento foi repetido até que as amostras mantivessem o seu peso constante. A umidade contida nas amostras foi relacionada à perda de peso, de acordo com a equação 2 (MOURA et al., 2014).

$$U\% = \frac{M_i - M_f}{M_i} \times 100 \quad \text{Equação 2}$$

Onde:

U% = porcentagem de umidade

M_i = Massa inicial

M_f = Massa fina

4. 3. 2 Absorção de água

O ensaio de absorção de água foi realizado a partir da avaliação da razão de intumescimento (RI), onde ocorre um aumento de volume devido à absorção de água, conforme descrito por Lima, Andreani e Soldi (2007). Para tanto, as amostras em triplicata foram secas em estufa a 105 °C por 24 horas. Em seguida foram pesadas a fim de se obter a massa inicial (M_i). As amostras de massa conhecida foram imersas em 45 mL de água deionizada a temperatura ambiente, sob agitação constante em mesa agitadora orbital (GyroMini, Nutating Mixer, Labnet). Em intervalos de tempos pré-estabelecidos de 15 min, os filmes foram retirados da água, o excesso de água foi

removido com auxílio de papel filtro e a massa final foi determinada em balança analítica. O processo foi repetido até peso constante. A RI foi determinada a partir da Equação 3 (ALMEIDA et al., 2013).

$$RI = \frac{M_f}{M_i} \quad \text{Equação 3}$$

Onde:

RI = Razão de Intumescimento

M_f = Massa final

M_i = Massa inicial

O delineamento experimental foi totalmente aleatório, com três repetições para cada amostra.

4. 3. 3 Monitoramento temporal da variação do peso dos filmes poliméricos

Foram realizados dois procedimentos distintos. No primeiro, as amostras de cada filme, em duplicata, eram acompanhadas e os pesos eram obtidos em tempos estabelecidos por 144 h. No segundo, obtendo-se um total de 2 amostras dos filme de agarose sem Ciprofloxacina e 3 amostras dos filmes de agarose com Ciprofloxacina, tendo seus pesos observados uma vez por semana ao longo de 90 dias. Nos dois ensaios as amostras eram deixadas em temperatura ambiente com média de 26 °C e com uma umidade relativa do ar em torno de 54% que foram medidas por um termo-higrômetro digital modelo que mostra a temperatura e umidade interna e externa. As massas foram obtidos por meio de balança analítica.

4. 4 Ensaios mecânicos

Para os ensaios de resistência à tração, os filmes poliméricos de agarose e os filmes de agarose com Ciprofloxacina foram preparados em uma forma de silicone com uma área de 198 cm², utilizando-se o mesmo método descrito no item 4.1. As quantidades de reagentes utilizados essa descrita na Tabela 4 abaixo, para os filmes de

agarose com Ciprofloxacina foi incorporada 8,8 mg do fármaco para que a concentração permanecesse a mesma que a utilizada nos filmes com menor quantidade de agarose.

Tabela 4. Quantidade de reagentes para a síntese dos filmes poliméricos empregados nos testes mecânicos.

| Reagentes | Quantidade |
|----------------|------------|
| Agarose | 0,4 g |
| Glicerina (PA) | 400 µL |
| Água | 80 mL |

As análises foram realizadas no Laboratório de Engenharia Biomédica (LEB) da UFPE. A resistência à tração foi determinada utilizando-se uma Máquina Universal de Ensaio (WDW 300E) acoplada ao software WinWdW. O ensaio foi realizado de acordo com a norma ASTM D882-12, utilizando uma força de carga de 0,4 KN e velocidade de 25 mm/min. O delineamento experimental foi totalmente aleatório, 8 repetições para cada amostra para que se pudesse analisar estatisticamente.

4. 5 Análises Espectroscópicas

4. 5. 1 Espectrofotometria de Absorção Eletrônica na região do Ultravioleta-Visível (UV-Vis)

As medidas de absorção na região do UV-Vis, de ambos os filmes, foram realizadas através de análises de varredura na região de 190 a 400 nm. As análises foram feitas no Laboratório de Biofísica-Química do Departamento de Biofísica da UFPE, utilizando-se o espectrofotômetro de absorção UV-Visível modelo UV 1800 UV ESPECTROFOTOMETRO (SHIMADZU – Japão), operado pelo Software UV Probe, que permite o armazenamento de dados (Figura 9).

Figura 9. Espectrofotômetro UV-Vis modelo UV 1800 UV ESPECTROFOTÔMETRO (SHIMADZU – Japão).



4. 5. 2 Espectroscopia de Absorção Vibracional na região Infravermelho com Transformada de Fourier (FT-IR)

Os filmes obtidos, bem como seus componentes de formação, foram caracterizados pela técnica de Espectroscopia de Infravermelho com Transformada de Fourier (FTIR) na faixa de número de onda de 4000 a 500 cm^{-1} . As análises foram realizadas na Central Analítica do DQF da UFPE. O equipamento utilizado foi o Spectrum 400 FT-IR/FT-NIR Spectrometer (Figura 10).

Figura 10. Espectrofotômetro FT-IR modelo Spectrum 400 FT-IR/FT-NIR Spectrometer



4. 5. 3 Espectroscopia Raman

Os filmes poliméricos e seus componentes de formação foram analisados através de Espectroscopia Raman (BRUKER – RAN II), que possui um laser fixo com o comprimento de onda de 1064 nm (Nd:YAG). As análises foram realizadas no Laboratório Multiusuário de Nanotecnologia - LMNANO, do Centro de Tecnologias Estratégicas do Nordeste – CETENE.

4. 5. 4 Difração de Raios – X (DRX)

A difração de raios X (DRX) é uma técnica padrão para caracterizar a estrutura dos materiais. Para esse trabalho as análises de DRX foram realizadas no Departamento de Física da UFPE. O equipamento utilizado foi um modelo XRD 7000 da SHIMADZU, com alvo de Cobre e $\lambda = 1,542 \text{ \AA}$.

4. 6 Caracterização dos filmes poliméricos em relação a interação com a Ciprofloxacina

4. 6. 1 Liberação simulada da Ciprofloxacina

4. 6. 1. 1 Ensaio de liberação simulada piloto

Para a obtenção de um resultado preliminar da liberação da Ciprofloxacina foi realizado uma adaptação do protocolo utilizado por Oliveira et al. (2012). Para a realização do ensaio, foram utilizadas 05 amostras dos filmes de agarose com Ciprofloxacina e uma amostra do filme de agarose, a fim de ser utilizado como controle negativo. Estas amostras permaneceram em água destilada a 37 °C em estufa comum por 4 dias. Após esse tempo, o meio foi analisado por espectroscopia no UV-Vis, na faixa de 190 a 400 nm, para avaliar a liberação da Ciprofloxacina, onde se podem observar os principais picos referentes ao fármaco.

4. 6. 1. 2 Ensaio de liberação simulada

Os ensaios de liberação controlada foram realizados no Laboratório de Física, Biofísica e Biomateriais, do Departamento de Ciências Biológicas na Faculdade de Ciências e Letras de Assis – UNESP, onde foram utilizados filmes em triplicata de agarose com e sem Ciprofloxacina imersos em 400 mL de água deionizada por 96 horas, e filmes de agarose com uma concentração de Ciprofloxacina 10 vezes superior à concentração utilizada na seção 4.1.2 imersos em 1000 mL de água deionizada por 140 horas. Ambos os ensaios foram realizados em um sistema estático (sem movimentação). As medidas foram realizadas no espectrofotômetro (varredura 200 - 300 nm) e o volume utilizado em cada leitura era devolvido ao sistema a fim de manter o volume inicial constante. Para a medição no UV-VIS (ultravioleta - visível) empregou-se o espectrofotômetro Bel SPECTRO SF200ADV (LGS53) na faixa de comprimento de onda de 200 a 1000 nm (precisão de +/- 2 nm), cubeta de quartzo de 10 mm de caminho óptico.

4. 6. 2 Distribuição da Ciprofloxacina nos filmes poliméricos

Para se verificar se a Ciprofloxacina estava distribuída uniformemente nos filmes poliméricos, foram preparadas três filmes de agarose contendo Ciprofloxacina, como descrito no item 4.1.2. Após a formação dos filmes poliméricos foram colhidas com o auxílio de um bisturi e pesadas em balança de precisão cinco amostras de cada filme de 100 mg (em um total de 15). Cada uma das amostras foi dissolvidas em 5 mL de água destilada e analisada por espectroscopia no UV-Vis, na faixa de 190 a 400 nm. Foi utilizada como padrão uma amostra do filme de agarose.

4. 6. 3 Estabilidade da Ciprofloxacina nos filmes poliméricos

A estabilidade da Ciprofloxacina nos filmes de agarose foi avaliada uma vez por semana durante 90 dias. Para esse ensaio foram pesados 100 mg do filme polimérico, o qual era diluído em 5 mL de água deionizada, em seguida a amostra era analisada no UV/Vis, para o acompanhamento de uma possível variação no máximo de absorção da Ciprofloxacina.

4. 6. 4 Degradação por meio da câmara de fotoestabilidade

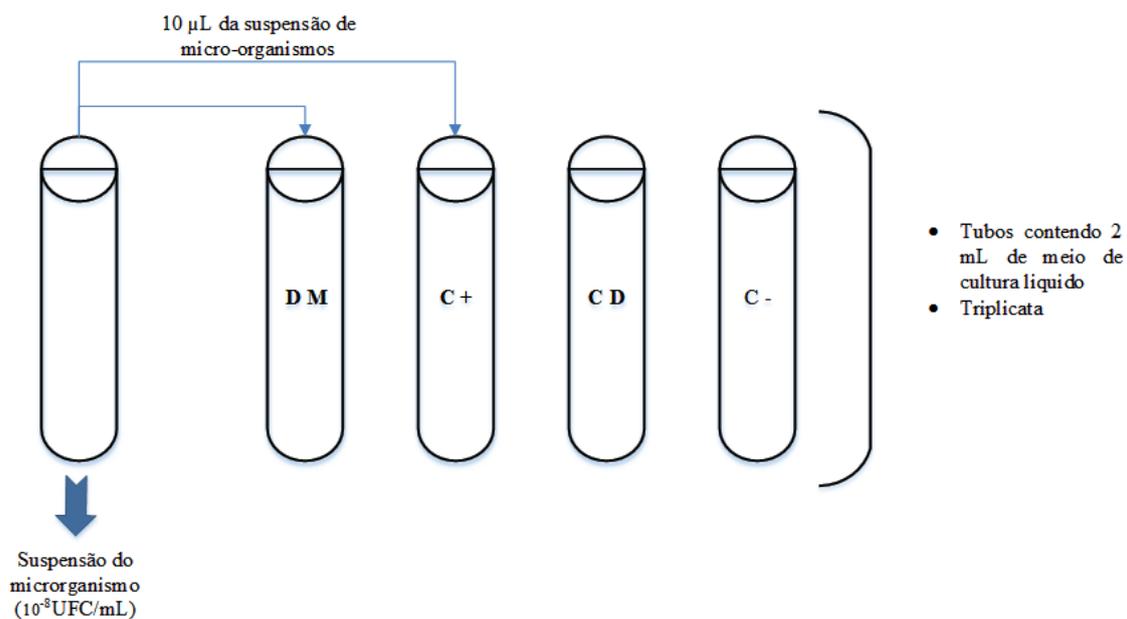
Os ensaios de degradação da Ciprofloxacina foram realizados na câmara de fotoestabilidade, confeccionada pelo NP2/UFPE, constituída de uma lâmpada de UV, com um máximo de emissão entre 350 e 370 nm, e duas lâmpadas brancas frias emitindo luz visível, instalada na Central de Caracterização de Alimentos, Suplementos e Medicamentos (CQ-AMOS) do Departamento de Nutrição – UFPE. Para a realização do ensaio os filmes obtidos foram diluídos em 10 mL de água ultrapura e levados à câmara de fotoestabilidade em vidros de penicilina, visando verificar a influência da luz na região ultravioleta (290 – 390 nm) e na região da luz visível (400 – 700 nm) sobre seus componentes.

4. 7 Atividade antimicrobiana

Para a avaliação da atividade antimicrobiana foi empregado o método de difusão em meio líquido, utilizando microrganismos da Coleção de Microrganismos do Departamento de Antibióticos da UFPE. Foram utilizadas culturas de *Staphylococcus aureus* (UFPEDA 700) e *Pseudomonas aeruginosa* (UFPEDA 39), representantes dos grupos de bactérias Gram-positivas e Gram-negativas, respectivamente, sendo ambas de importância clínica em queimaduras e feridas de pele.

A partir de isolados dos microrganismos teste com 24 h de cultivo, suspensões microbianas foram padronizadas em solução fisiológica de cloreto de sódio a 0,9% de acordo com a turvação equivalente ao tubo 0,5 da escala de McFarland, que corresponde a aproximadamente 10^8 UFC/mL para bactérias. Para a realização dos testes (Figura 11), 10 μ L da suspensão dos microrganismos foram adicionados a tubos contendo 2 mL meios de cultura Mueller-Hinton (MH) líquido. Aos tubos foram então adicionados discos de 6 mm de diâmetro do filme polimérico incorporado com a Ciprofloxacina, em triplicata. Além disso, foram realizados os controles positivo, através de tubos contendo meio de cultura líquido e 10 μ L da suspensão dos microrganismos, controle negativo, contendo apenas o meio de cultura e controle do disco, contendo o meio de cultura com o disco.

Figura 11. Esquema representativo do método de difusão em meio líquido.



Legenda:

D M: Disco do filme polimérico incorporado com Ciprofloxacina contendo 10 μ L do micro-organismo

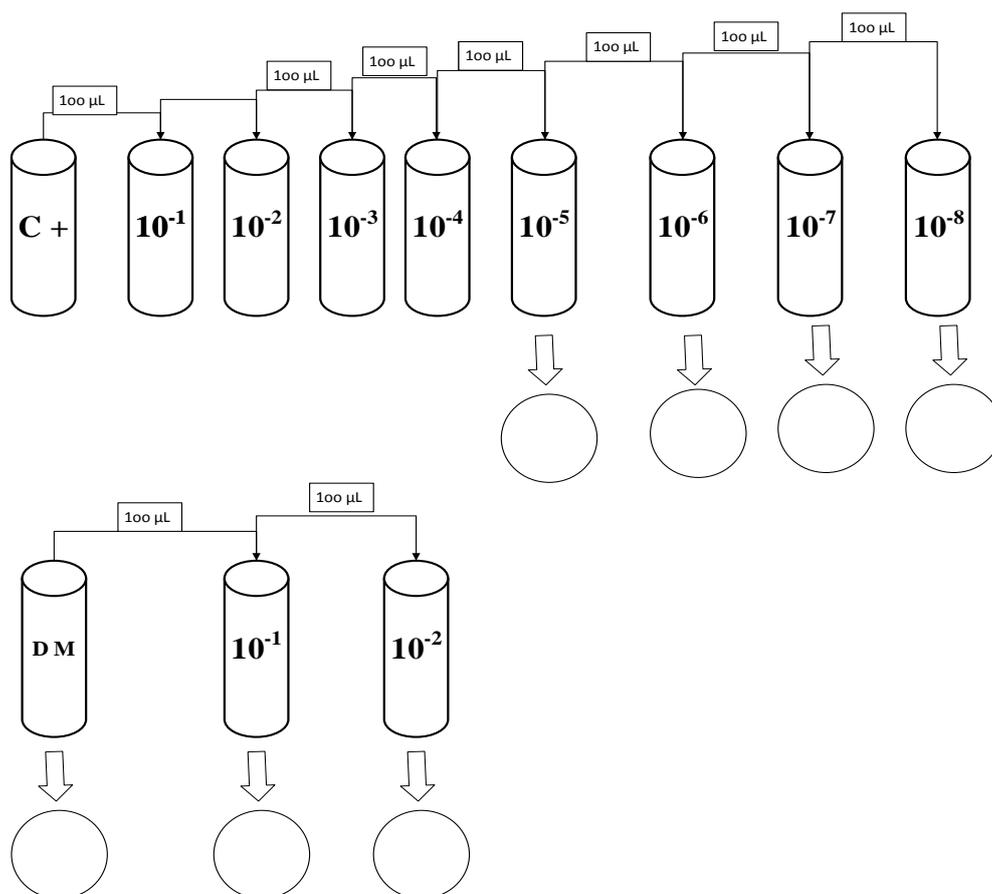
C +: Controle positivo: tubos de ensaio com o meio de cultura e com o microorganismo.

C D: Controle do disco

C -: Controle negativo: tubos de ensaio apenas com o meio de cultura.

Os tubos foram incubados a 37 °C por 24 horas. Após a incubação, foram realizadas comparações da turbidez dos tubos testes e controle. A partir do padrão de turvação, foram então realizadas diluições seriadas de 10^{-1} e 10^{-2} dos tubos que continham o filme polimérico incorporado com a Ciprofloxacina e diluições de 10^{-1} a 10^{-8} para o controle positivo, estas diluições são necessárias para que se consiga realizar a contagem das Unidades Formadoras de Colônia (UFC). Alíquotas de 1 μ L de cada diluição foram semeadas em rede, em meios de cultura contidos em placas de Petri. Estas foram incubadas a 37 °C por 24 horas, para a posterior contagem das UFC. Toda a avaliação da atividade antimicrobiana foi realizada no Departamento de Antibiótico da UFPE.

Figura 12. Esquema representativo das metodologias de diluição e semeio em rede.



Todos os tubos continham 0,9 mL de água esterilizada, o experimento foi realizado em triplicata.

4. 8 Análise estatística

Os resultados dos ensaios físicos e mecânicos foram avaliados estatisticamente por análise de variância (ANOVA) seguido de teste de Tukey para comparação de médias, com nível de significância de 5% ($p < 0,05$). As análises estatísticas foram realizadas utilizando o software estatístico Excel da Microsoft.

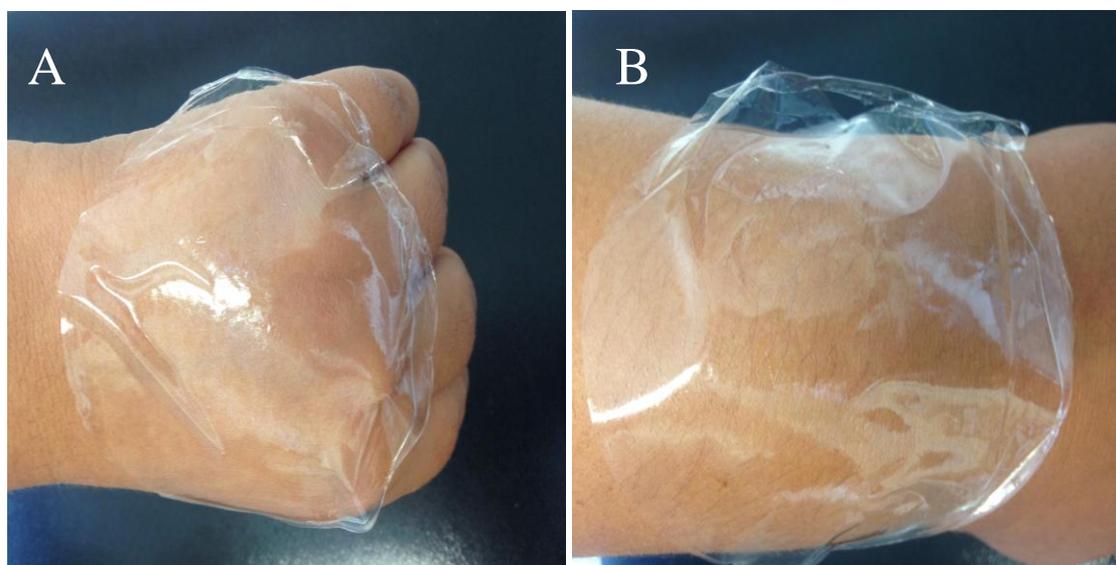
5. RESULTADOS E DISCUSSÃO

5.1 Desenvolvimento dos filmes poliméricos

Após os testes com as quantidades pré-determinadas de agarose, verificou-se que os filmes poliméricos preparados apresentaram-se macroscopicamente homogêneos e sem rachaduras (Figura 13). Os filmes poliméricos preparados com 0,99 mg de agarose/cm², mostraram-se flexíveis e aderentes, mas susceptíveis a quebras com o seu manuseio. Os filmes poliméricos preparados com 4,95 mg de agarose/cm², apresentaram-se flexíveis, todavia, não apresentaram aderência. Os filmes poliméricos preparados com 1,98 mg de agarose/cm², mostraram-se finos, flexíveis e aderentes. Ao final do ensaio decidiu-se que os filmes poliméricos preparados com 1,98 mg de agarose/cm², apresentavam as qualidades condizentes com os objetivos propostos nesse trabalho (espessura, flexibilidade) e a estes foram incorporados 2,2 mg de Ciprofloxacina.

A partir dessa metodologia, foram sintetizados filmes poliméricos de agarose e filmes poliméricos de agarose incorporados com a Ciprofloxacina, que apresentaram os mesmos aspectos superficiais conforme descrito nos trabalhos de Souza (2008), Pasquine et al. (2012), Giménez et al. (2013) e Rhim et al. (2013), tais como aderência, flexibilidade e homogeneidade, salientando que nesse trabalho, os filmes poliméricos, foram sintetizados com uma quantidade menor agarose e glicerina, e apresentaram resultados satisfatórios. É importante destacar ainda, que as características observadas por inspeção visual, estão de acordo com as características requeridas para esse tipo de curativo cutâneo temporário, tais como, reologia comparada a da pele, facilidade de armazenamento, resistência ao cisalhamento e ampla disponibilidade (FERREIRA et al., 2011).

Figura 13. (A) Filme polimérico de agarose, (B) filme polimérico de agarose incorporado com Ciprofloxacina.



5. 2 Determinações das propriedades morfológicas

5. 2. 1 Espessura

A espessura é definida como a distância entre as duas superfícies principais do material. Este parâmetro torna-se importante, pois através dele é possível obter outras informações morfológicas sobre o material (transparência, propriedades mecânicas, etc.). Após a realização dos ensaios para a aquisição da espessura, verificou-se que os filmes desenvolvidos, apresentaram pouca variação entre si ($p > 0,05$). Na Tabela 5 é possível observar a média e o desvio padrão para cada tratamento.

Tabela 5. Médias das espessuras dos filmes de agarose e dos filmes de agarose contendo Ciprofloxacina.

| Teste | Filme de agarose | Filme de agarose com Ciprofloxacina |
|-----------------------------|------------------|-------------------------------------|
| Espessura (μm) | 57 ± 10^a | 40 ± 10^a |

^a As letras iguais expressam que não houve diferença significativa para o teste de Turkey para $p < 0,05$.

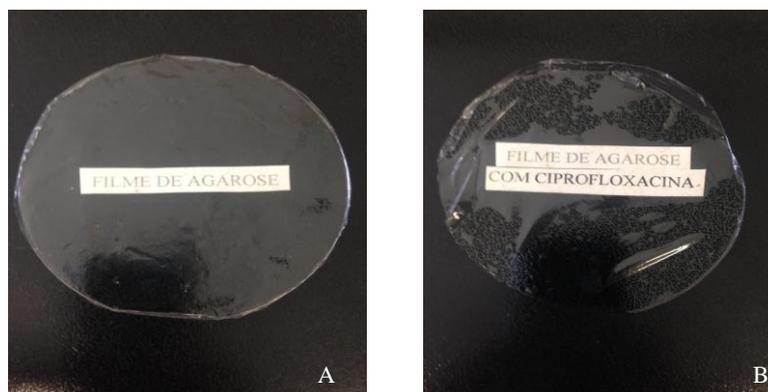
Os filmes de agarose apresentaram um decréscimo na espessura em relação aos filmes de agarose com a incorporação do fármaco, o que pode indicar que a presença da Ciprofloxacina, pode levar a uma maior perda de água pelos filmes.

De acordo com Moraes (2013), os substitutos cutâneos são geralmente mais finos do que a derme humana, que possuem uma variação entre 0,5 e 2 mm, dependendo de alguns fatores, tais como, idade, gênero e área do corpo. Considerando-se então tal aspecto, os resultados sugerem que os filmes preparados neste trabalho possuem potencial para serem utilizados como curativos cutâneos, ou mesmo substitutos temporários de pele, visto que os filmes de agarose possuem uma espessura média de 57 μm e os filmes de agarose incorporados com Ciprofloxacina possuem uma espessura média de 40 μm .

5. 2. 2 Transparência

Na avaliação das propriedades óticas de um filme podemos destacar a cor e opacidade dos filmes. A opacidade de um material demonstra sua maior ou menor transparência que pode ser caracterizada pelo bloqueio ou não da luz. A cor está relacionada com o tipo de material utilizado para seu desenvolvimento. Na Figura 14 a seguir, pode-se observar o filme de agarose (A) que foi preparado utilizando 1,98 g de agarose por área da placa e o filme de agarose contendo Ciprofloxacina sintetizado com as mesmas especificações (B), onde é possível observar as inscrições que estão por baixo dos filmes poliméricos sintetizados.

Figura 14. (A) filme preparado com 0,1 g de agarose ($1,98 \text{ g/cm}^2$ de placa); (B) filme de agarose ($1,98 \text{ g/cm}^2$ de placa) contendo 2,2 mg de Ciprofloxacina.



A fim de se quantificar a intensidade da transparência foi observado o espectro na região do ultravioleta e do visível (190 a 800 nm) dos filmes de agarose e dos filmes de agarose incorporados com Ciprofloxacina (Tabela 6), observando os picos de maior e menor transparência nessas regiões.

Tabela 6. Relação entre a absorbância e transparência nos filmes poliméricos de agarose com e sem Ciprofloxacina.

| Regiões do espectro de absorção | Comprimento de onda (nm) | Transparência dos filmes de agarose (mm⁻¹) | Transparência dos filmes de agarose com Ciprofloxacina (mm⁻¹) |
|--|---------------------------------|--|---|
| Visível | 600 | 14,10 ± 0,12 ^a | 11,23 ± 0,17 ^a |
| | 400 | 25,00 ± 0,02 ^a | 49,30 ± 0,03 ^b |
| Ultravioleta | 272 | 23,80 ± 0,10 ^b | 265,13 ± 0,10 ^b |
| | 324 | 44,20 ± 0,20 ^a | 69,60 ± 0,30 ^b |

^a As letras iguais expressam que não houve diferença significativa para o teste de Turkey para $p < 0,05$.

A partir da análise dos dados é possível observar que, em 600 nm não houve diferença estatisticamente significativa na transparência dos dois filmes de agarose com e sem Ciprofloxacina ($p > 0,05$). Já em 400 nm os filmes de agarose apresentaram uma maior opacidade em relação aos filmes contendo Ciprofloxacina ($p < 0,05$), visto que foi encontrado um valor menor de T (transparência), indicando maior transparência do filme. Comparativamente quando analisamos a transparência na região do Ultravioleta os filmes de agarose apresentam uma maior transparência em relação aos filmes de agarose contendo Ciprofloxacina. Isto pode ser atribuído ao fato da Ciprofloxacina possuir duas bandas de absorção nessa região (272 e 324 nm) referentes aos grupos cromóforos presentes na molécula.

É de grande interesse que os filmes poliméricos produzidos nessa pesquisa possuam transparência, ou seja, permitam a passagem da luz, pois essa propriedade possibilita observação diária do aspecto da ferida, possibilitando o acompanhamento da evolução do processo cicatricial, bem como a detecção precoce de complicações, tais como infecções.

Rhim et al. (2013) desenvolveram um filme polimérico de agar contendo nanopartículas de prata como agente antimicrobiano, tais filmes poliméricos se

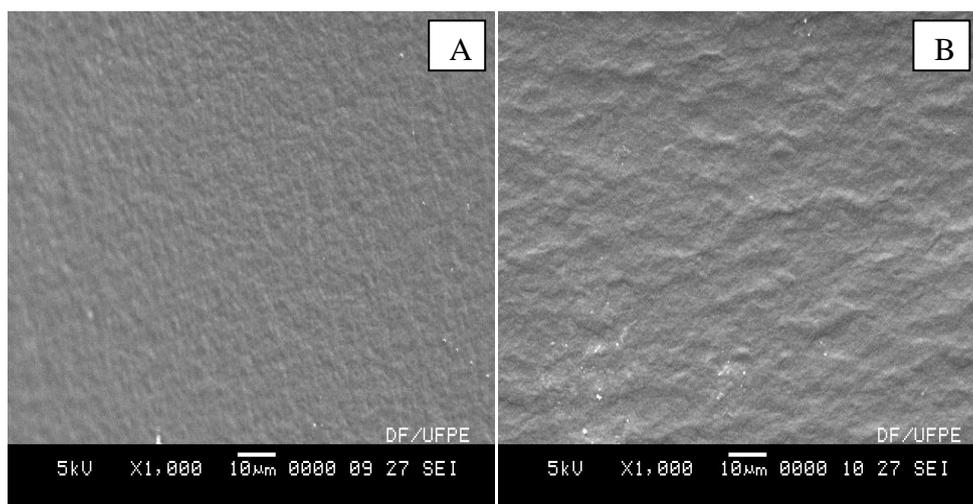
mostravam menos transparentes a partir da incorporação de uma maior quantidade de nanopartículas de prata. É interessante ressaltar que os filmes poliméricos sintetizados nessa pesquisa permanecem transparentes, na região do visível, mesmo com o aumento da concentração da Ciprofloxacina incorporada.

5. 2. 3 Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV)

As superfícies dos filmes poliméricos foram visualizadas através de microscopia eletrônica de varredura (MEV), o que possibilitou uma análise de maneira mais detalhada as evidências morfológicas mencionadas nos ensaios relativos às características macroscópicas. Nesse tipo de microscopia é possível produzir imagens de alta resolução da superfície de uma amostra, através da aceleração de um feixe de elétrons de pequeno diâmetro para explorar a superfície da amostra.

A Figura 15 (A) apresentada a seguir mostra a imagem da microscopia eletrônica de varredura para o filme de agarose com uma resolução de 1000 vezes. Já na Figura 16 pode-se observar as micrografias dos filmes de agarose com a incorporação da Ciprofloxacina, na mesma resoluções mencionadas acima.

Figura 15. (A) Microscopia eletrônica de varredura (MEV) para o filme de agarose com magnificação de 1000 x; (B) e para os filmes de agarose contendo Ciprofloxacina com aproximação de 1000 x.



A verificação das características microscópicas e morfológicas dos filmes poliméricos é de fundamental importância, especialmente para se avaliar a existência de bolhas de ar e/ou rachaduras, garantindo assim a integridade dos filmes poliméricos para a execução dos demais testes. Como pode ser observada a análise morfológica da superfície dos filmes aparentemente não mostrou diferenças visuais significativas, ambos os filmes apresentaram uma superfície rugosa, sem rachaduras e homogênea, com morfologia de superfície uniforme, sem ocorrência de separação de fases.

5.3 Ensaios de interação com a água

5.3.1 Teor de umidade

Para a avaliação do teor de umidade dos filmes de agarose sem e com Ciprofloxacina, foram verificados através das medidas de perda de peso conforme Ferreira (2005). Essa análise é fundamental para um entendimento do comportamento dos filmes poliméricos, tendo em vista que a água que é utilizada para o preparo dos filmes, possibilita a esses apresentarem características reológicas semelhantes às da pele, em que a presença de umidade em filmes poliméricos pode influenciar na sua permeabilidade a gases e vapores. Na Tabela 7 a seguir, é possível observar os dados obtidos neste ensaio.

Tabela 7. Teor de umidade, em percentagem, para os filmes de agarose e para os filmes de agarose com Ciprofloxacina.

| Teste | Filme de agarose | Filme de agarose com Ciprofloxacina |
|----------------------------|-------------------------|-------------------------------------|
| Teor de umidade (%) | 26,3 ±0,17 ^a | 25,2 ±0,18 ^a |

^a As letras iguais expressam que não houve diferença significativa para o teste de Turkey para $p < 0,05$.

Os resultados estão expressos pela média e desvio padrão. As análises dos dados demonstram que os filmes de agarose apresentaram-se com um teor de umidade um pouco maior que os filmes de agarose com Ciprofloxacina, cerca de 1 %, porém ao se realizar o teste de Turkey, com um nível de significância de 5%, não foi observado diferença estatisticamente significativa, demonstrando assim que a adição do agente

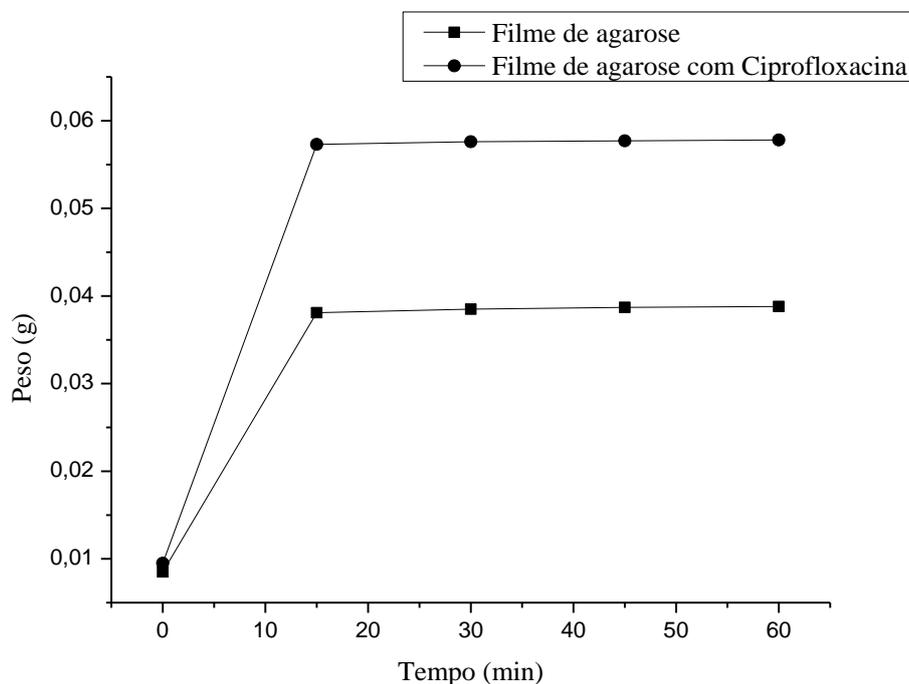
antimicrobiano ao filme polimérico não altera sua característica em relação ao teor de umidade.

Onofre (2014) desenvolveu filmes poliméricos de agarose e filmes poliméricos de agarose contendo nanopartículas de prata como agente antimicrobiano. Em seus ensaios observou-se que os filmes de agarose possuíam cerca de 30% de teor de umidade, e que os filmes contendo as nanopartículas de prata possuíam cerca de 29% de teor de umidade, inferindo assim que as nanopartículas de prata não modificaram o teor de umidade dos filmes poliméricos. Nessa pesquisa nota-se também que a incorporação da Ciprofloxacina não alterou o teor de umidade dos filmes poliméricos, apresentando resultados semelhantes aos descritos na literatura, utilizando menos quantidade de agarose e mais maleabilidade.

5.3.2 Absorção de água

A quantificação da absorção de água é uma análise de grande relevância, quando se pretende utilizar os filmes produzidos como substitutos temporários de pele, pois sua interação com a água pode vir a interferir nas propriedades mecânicas e promover instabilidade dimensional dos filmes, ou seja, alterar alguma dimensão dos filmes (espessura, largura). Na Figura 16 a seguir, é possível observar os resultados para a razão de intumescimento dos filmes de agarose e dos filmes de agarose contendo Ciprofloxacina, na qual se relaciona o peso dos filmes secos com os obtidos após imersão dos mesmos em água.

Figura 16. Representação gráfica dos resultados do ensaio de absorção de água para os filmes de agarose e para os filmes de agarose contendo Ciprofloxacina.



Ao analisarmos o gráfico do ensaio de absorção de água (Figura 16) é possível observar que, os filmes de agarose sem e com a Ciprofloxacina absorvem uma grande quantidade de água nos primeiros 15 minutos, havendo um aumento de cerca de 500% de intumescimento nos filmes de agarose contendo Ciprofloxacina e de aproximadamente 350% para os filmes de agarose, atingindo o equilíbrio de intumescimento após 30 min. Os resultados sugerem que a incorporação da Ciprofloxacina ao filme polimérico aumenta a hidrofília do sistema. É importante salientar que ao final do ensaio, foi possível observar por inspeção visual, que ambos os filmes permaneceram com a sua superfície e estruturas preservadas.

Os resultados obtidos nessa pesquisa referentes ao teor de umidade apresentaram valores muito mais expressivos em relação aos obtidos por Giménez et al. (2013) para filmes poliméricos preparados com 1,5 g de agarose, produzidos por um mesmo sistema (Casting) desse trabalho, obtiveram uma razão de intumescimento de cerca de 24%, atribuindo essa porcentagem, a hidrofília do glicerol utilizado como agente plastificante, pois nessa pesquisa foi utilizada uma quantidade menor de polímero e agente plastificante, e ainda assim, foi observado uma absorção de água bastante superior, onde

foi observado por inspeção visual que os filmes poliméricos mantiveram sua estrutura morfológica íntegra.

5.3.3 Monitoramento do peso dos filmes poliméricos

Uma das características físico-químicas importantes dos polímeros é a sua higroscopicidade, que pode ser definida como a tendência que os filmes poliméricos apresentam de absorver umidade do ar atmosférico.

A Figura 17 a seguir ilustra a variação do peso dos filmes de agarose sem e com Ciprofloxacina ao longo de 144 h, e a Figura 18 ao longo de 90 dias.

Figura 17. Representação gráfica dos resultados do ensaio de monitoramento do peso dos filmes de agarose e dos filmes de agarose contendo Ciprofloxacina durante 144 h.

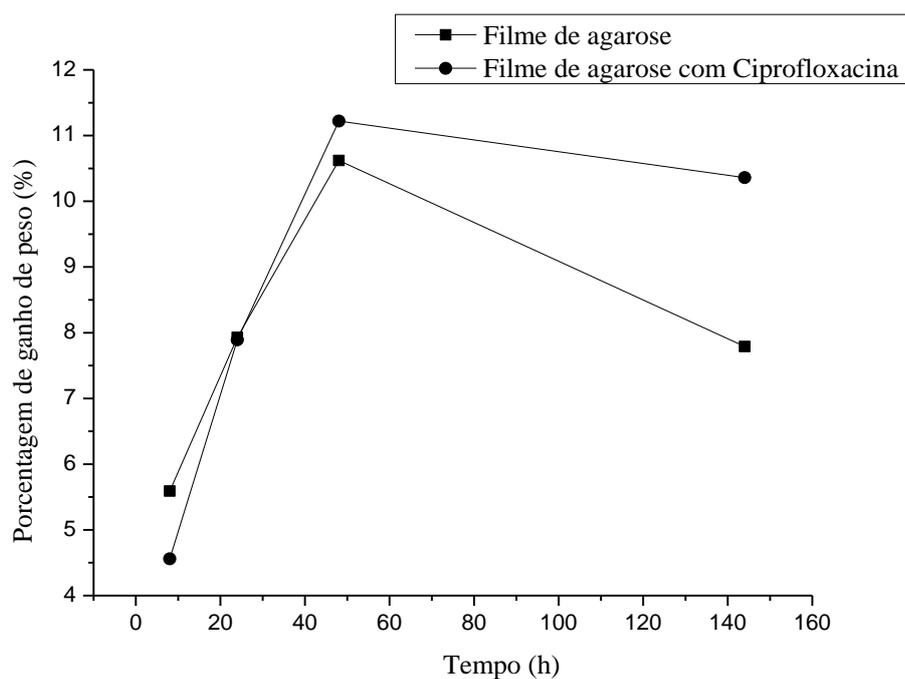
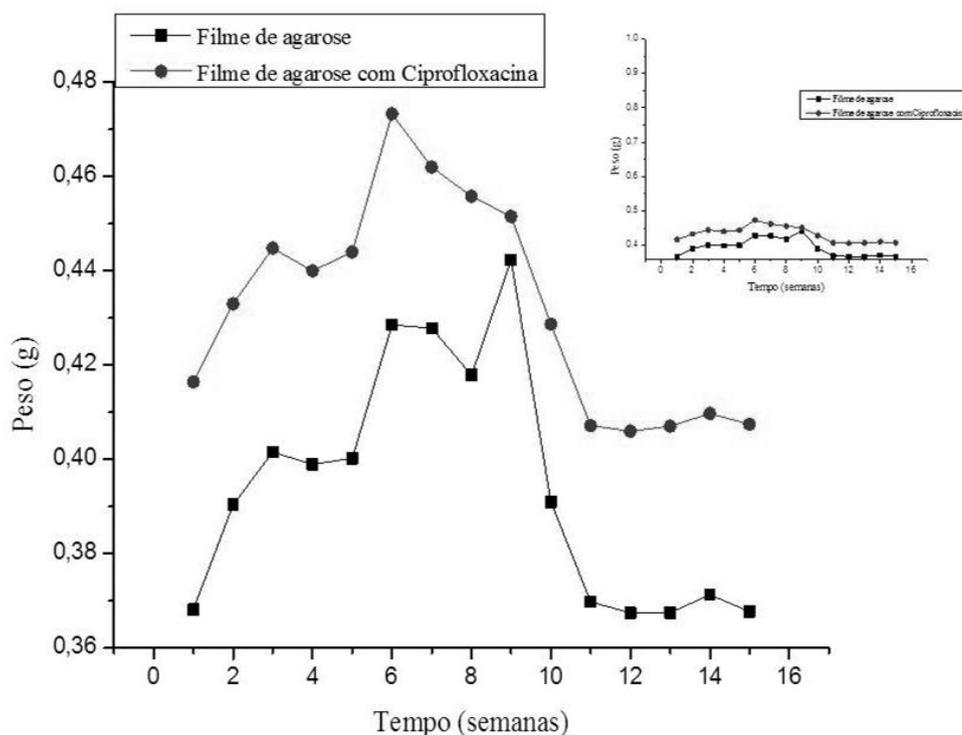


Figura 18. Representação gráfica dos resultados do ensaio de monitoramento do peso dos filmes de agarose e dos filmes de agarose contendo Ciprofloxacina durante 90 dias.



A partir dos dados obtidos com o teste de estabilidade foi possível verificar que os filmes de agarose sem e com Ciprofloxacina, apresentaram uma variação cerca de 8% e 10% respectivamente, de aumento de peso no decorrer do tempo do teste. Observa-se também que a incorporação da Ciprofloxacina ao filme polimérico propicia uma maior absorção de água do ambiente, bem como, manteve o peso do filme mais estável com relação aos filmes apenas com agarose.

Durante a realização do teste a temperatura manteve-se em aproximadamente $26,6 \pm 1,2$ °C, e a umidade relativa do ar em $57,1 \pm 3,5$ %, que foi aferido por meio de um termohidrometro digital. Através de inspeção visual foi possível observar que em ambos os teste os filmes se mantiveram íntegros fisicamente, não aparentando rachaduras nem perda de flexibilidade e aderência.

Sousa et al., (2009) desenvolveram filmes biodegradáveis de amido de mandioca com a adição de nanofibrilas de algodão, com alto teor de higroscopicidade, mas sem alterar as propriedades mecânicas dos filmes, o que também pode ser observado nessa pesquisa, destacando-se que a obtenção e síntese dos filmes por nós produzidos se mostra mais simplificada e acessível.

5. 4 Ensaios mecânicos

As propriedades mecânicas de filmes poliméricos são medidas através de ensaios de tração, flexão, compressão ou impacto. O ensaio de tração é amplamente utilizado para o levantamento de informações fundamentais sobre a resistência e comportamento mecânico dos polímeros, em especial flexíveis e semi-rígidos. Neste trabalho os ensaios mecânicos foram realizados de acordo com as normas ASTM D882-12, que segue a padronização do teste de tração de plásticos finos. A Tabela 8 abaixo mostra a média dos resultados obtidos, os quais foram retirados a partir de gráficos de tensão x deformação.

Tabela 8. Testes mecânicos - tensão e alongamento na ruptura para os filmes de agarose e os filmes de agarose contendo Ciprofloxacina.

| Amostra | Tensão na ruptura (MPa) | Alongamento na ruptura (%) |
|---|--------------------------------|-----------------------------------|
| Filmes de Agarose | 17, 3 ± 2,20 ^b | 21,5 ± 4,5 ^a % |
| Filmes de agarose com Ciprofloxacina | 32,9 ± 0,06 ^a | 13,8 ± 2,7 ^b % |

^{a,b} Diferentes letras em uma mesma coluna correspondem a valores com diferença significativa pelo teste de Tukey ($p < 0,05$).

Os resultados estão expressos pela média e desvio padrão de um mesmo tratamento. Tanto em relação à tensão na ruptura como em relação ao alongamento na ruptura, os resultados sugerem que os filmes de agarose com Ciprofloxacina se apresentaram superiores aos filmes apenas com agarose. Esses resultados nos permitem constatar que a incorporação da Ciprofloxacina nos filmes conferiu a estes uma melhora nas propriedades mecânicas estudadas, o que nos permite inferir que provavelmente ocorre interações químicas entre o fármaco e a matriz polimérica.

É importante salientar que a adição de agentes plastificantes na produção de filmes poliméricos, exerce uma forte influência sobre as características mecânicas dos filmes. Tal fato tem sido evidenciado em alguns trabalhos na literatura, como o de Onofre (2014), que produziu filmes poliméricos de agarose com a incorporação de nanoparículas de prata pelo sistema de “*casting*”, utilizando 0,3 g de agarose e glicerol como agente plastificante, sendo possível observar uma tensão na ruptura de $51,4 \pm 2,5$ MPa, e um alongamento na ruptura de $37,8 \pm 4,7\%$. Já na pesquisa de Pasquine et al.,

(2012), foram sintetizados filmes com 0,3 g de agarose reforçados com nanocristais de celulose extraídos de fibras de caroço de manga sem a adição de agentes plastificantes, com uma tensão na ruptura entre 13,35 e 46,28 MPa, e um alongamento na ruptura que variou entre 1,62 a 12,52%, variando a quantidade de agarose e dos nanocristais de celulose. Em que a melhoria das propriedades mecânicas foi justificada pelo aumento da concentração dos nanocristais na matriz polimérica, porém se comparada aos filmes produzidos com a adição de agentes, esse aperfeiçoamento se torna pequena.

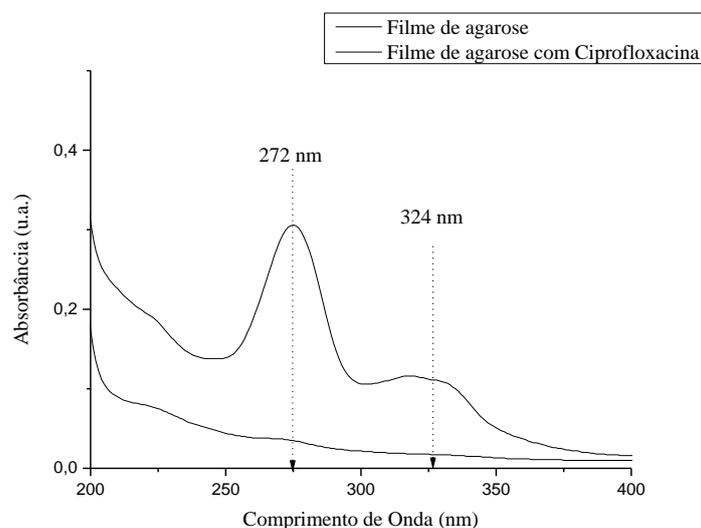
5. 5 Análises Espectroscópicas

5. 5. 1 Espectrofotometria de absorção eletrônica na região do Ultravioleta – Visível (UV-Vis)

A espectrofotometria na região do UV-Vis é uma técnica analítica que se baseia na interação da matéria com a energia radiante, na qual o espectro eletrônico de absorção é o registro gráfico da resposta do sistema ao estímulo, tal técnica possui ampla aplicação na caracterização de uma série de propriedades de diversas espécies orgânicas e inorgânicas. Nesse trabalho as análises espectrofotométricas foram utilizadas para verificar a incorporação da Ciprofloxacina nos filmes poliméricos.

As análises foram realizadas a partir da diluição de 10 mg de cada filme polimérico em 5 mL de água destilada. Os filmes poliméricos de agarose não apresentaram picos de absorção (Figura 19). Os filmes poliméricos de agarose com a incorporação da Ciprofloxacina apresentaram um pico máximo de absorbância em 272 nm referente ao grupo quinolônico, e um pico de menor intensidade em 324 nm característico da Ciprofloxacina.

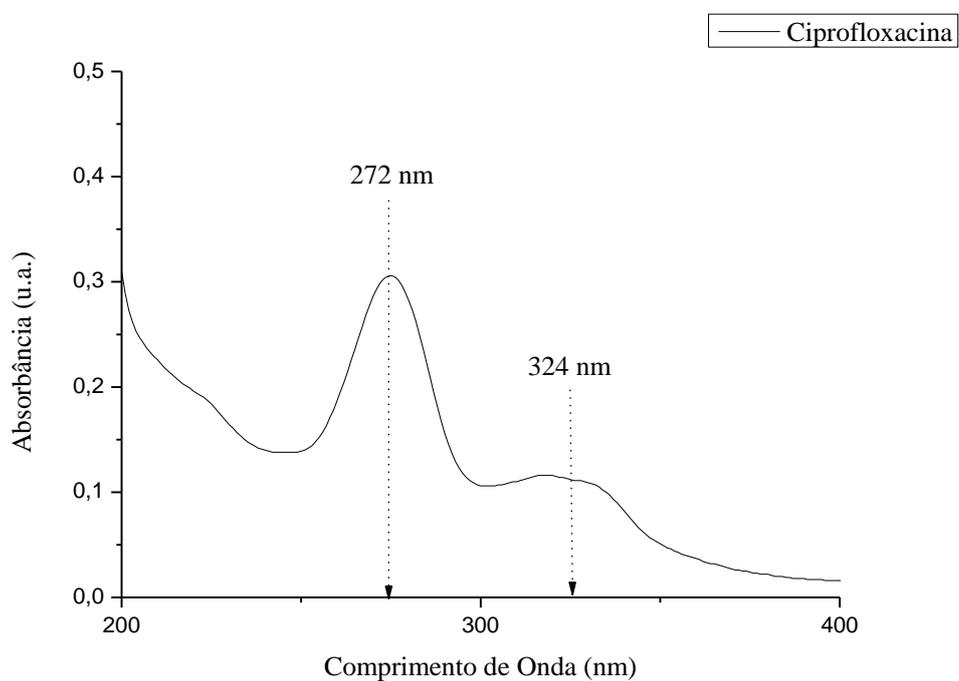
Figura 19. Espectro de absorção eletrônica na região do UV-Vis do filme de agarose com e sem Ciprofloxacina.



Estes resultados corroboram àqueles obtidos por Cazedey e Salgado (2012), que utilizaram soluções da Ciprofloxacina em diferentes solventes, e obtiveram o espectro do pico máximo variando entre 272 a 281 nm e o pico de menor intensidade variando entre 324 a 417 nm.

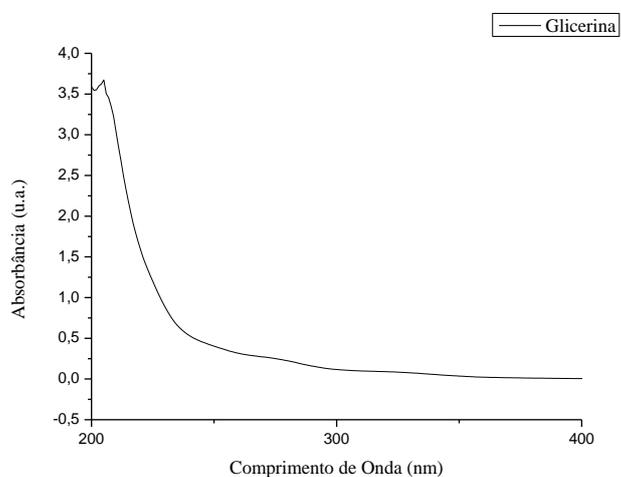
Na literatura é possível encontrarmos a incorporação da Ciprofloxacina em diferentes polímeros para a utilização em diversos fins, dentre eles pode-se citar, Raj et al.,(2013) que desenvolveram um compósito com hidroxiapatita, para a utilização como Drug Delivery, obtiveram o espectro da Ciprofloxacina incorporada ao material em 277 nm, e Ahmed et al., (2009) que ao sintetizarem filmes baseados em quitosana com a incorporação da Ciprofloxacina, para a utilização em terapias periodontais, encontraram um pico máximo da Ciprofloxacina incorporada em 278 nm. É importante salientar que nesse trabalho o espectro dos filmes de agarose com Ciprofloxacina possui o seu máximo de absorção no mesmo comprimento de onda que o espectro da solução de Ciprofloxacina em água (Figura 20), preservando assim o grupamento quinolônico, o qual é responsável pela ação antibacteriana do fármaco e evidenciando que o processo de produção dos filmes não alterou sua estrutura.

Figura 20. Espectro de absorção eletrônica na região do UV-VIS do filme de agarose com e sem Ciprofloxacina.



Para fins comparativos também foram realizados espectros da glicerina que foi utilizada como agente plastificante em ambos os filmes produzidos neste trabalho, a qual não apresentou picos em seu espectro (Figura 21).

Figura 21. Espectro de absorção eletrônica na região do UV-VIS do filme de agarose com e sem Ciprofloxacina.

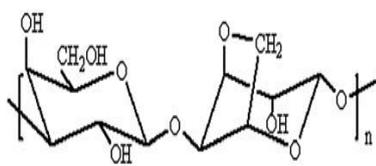
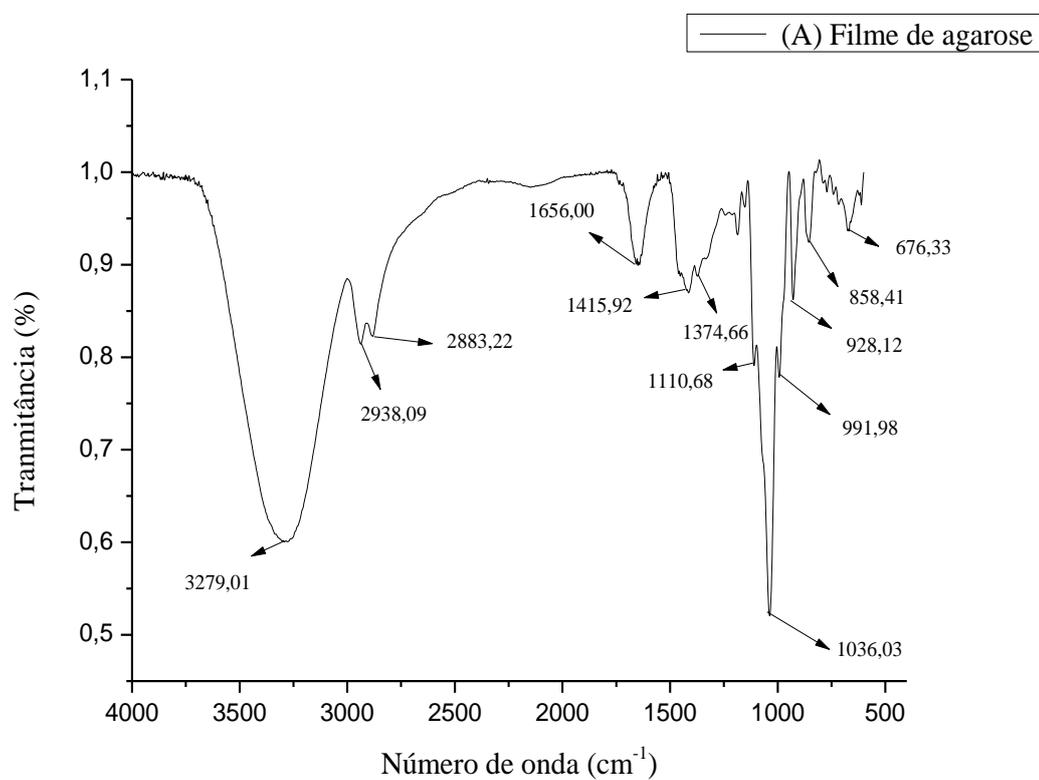


Ao analisarmos o gráfico de absorção da glicerina, pode-se observar que a mesma não possui nenhum máximo de absorção na região estudada (200-400 nm), o que nos permite inferir que sua incorporação ao filme não interfere nos máximos de absorção referentes à Ciprofloxacina que, como mencionado acima, possui dois picos característicos nessa região. Pode-se entender então que a incorporação da glicerina confere aos filmes sintetizados uma maior maleabilidade e uma melhor relação com a água, porem não interfere na interação dos filmes com a luz.

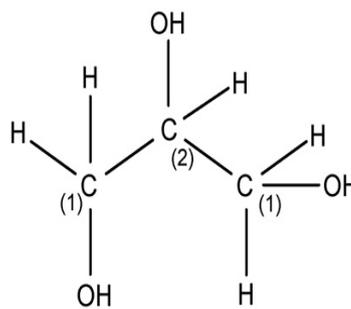
5. 5. 2 Espectroscopia de Absorção Eletrônica na região do Infravermelho com Transformada de Fourier (FT-IR)

Os espectros na região do infravermelho representam uma impressão digital de uma determinada amostra formando picos de absorção que correspondem às frequências de vibrações entre as ligações dos átomos que compõe o material (KONDAVEETIA et al., 2014). Nesse trabalho, foram realizadas análises de FT-IR para os filmes de agarose (Figura 22), para os filmes de agarose incorporados com Ciprofloxacina (Figura 23), para os filmes de agarose incorporados com uma quantidade maior de Ciprofloxacina (10 vezes) (Figura 24), para a agarose (pó) (Figura 25), para a Ciprofloxacina (pó) (Figura 26) e para a glicerina (Figura 27), visando observar e comprovar a incorporação da Ciprofloxacina nos filmes poliméricos, bem como possíveis interações entre os componentes utilizados para a síntese dos filmes.

Figura 22. (A) Espectro de absorção vibracional na região do infravermelho com transformada de Fourier do filme de agarose, (B) estrutura química da agarose, (C) estrutura química da glicerina.

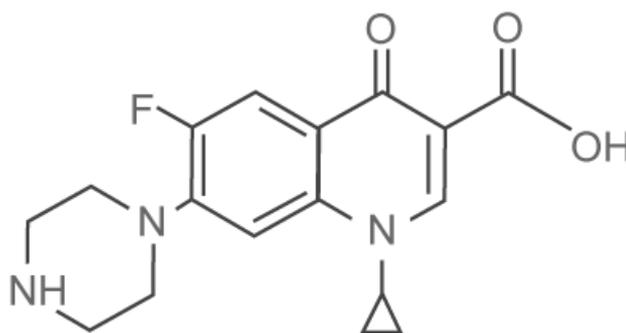
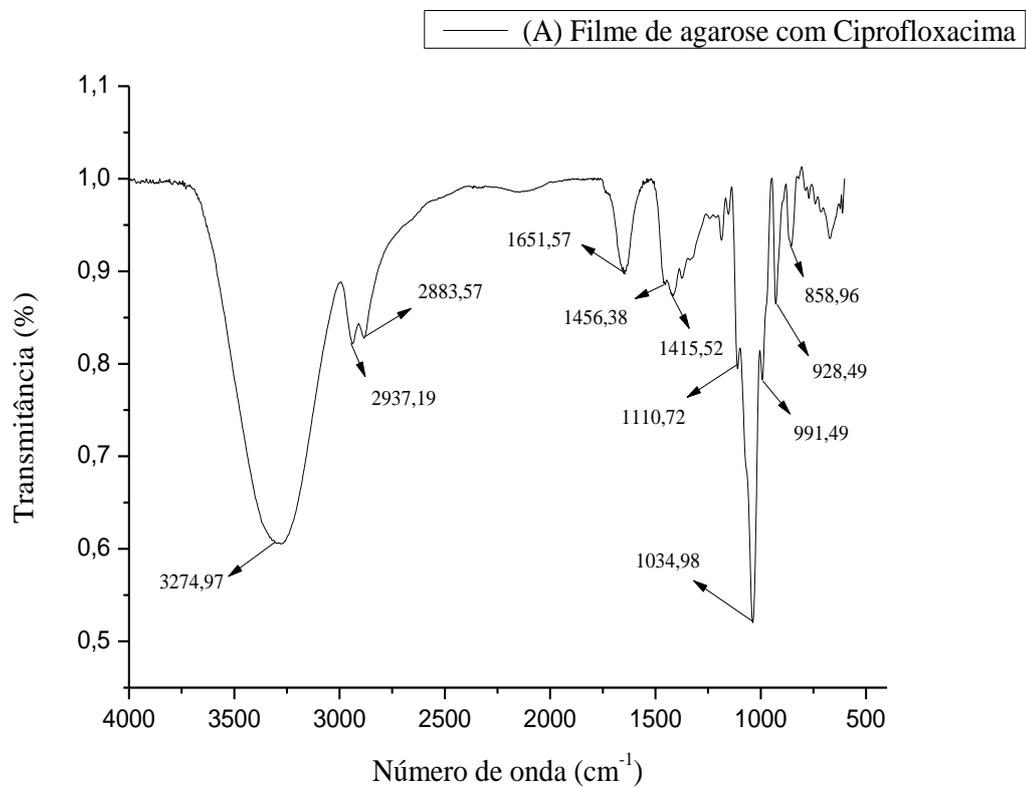


(B)



(C)

Figura 23. (A) Espectro de absorção vibracional na região do infravermelho com transformada de Fourier do filme de agarose incorporado com Ciprofloxacina, (B) estrutura química da Ciprofloxacina.



(B) Ciprofloxacina

Figura 24. Espectro de absorção vibracional na região do infravermelho com transformada de Fourier do filme de agarose incorporado com uma dose de Ciprofloxacina 10 vezes maior que a utilizada na preparação dos filmes.

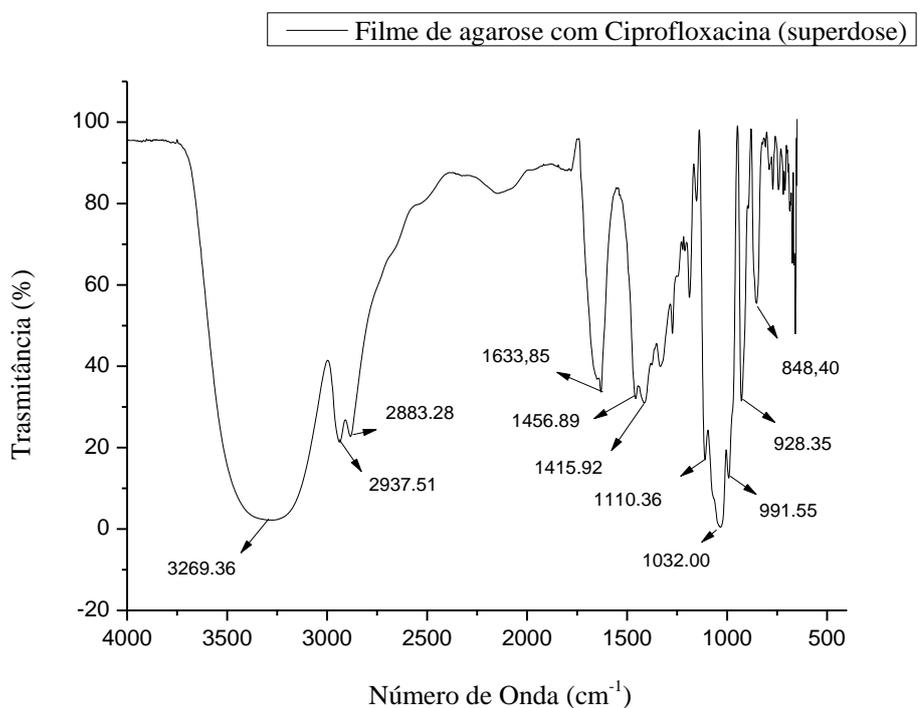


Figura 25. Espectro de absorção vibracional na região do infravermelho com transformada de Fourier da agarose utilizada para a produção dos filmes.

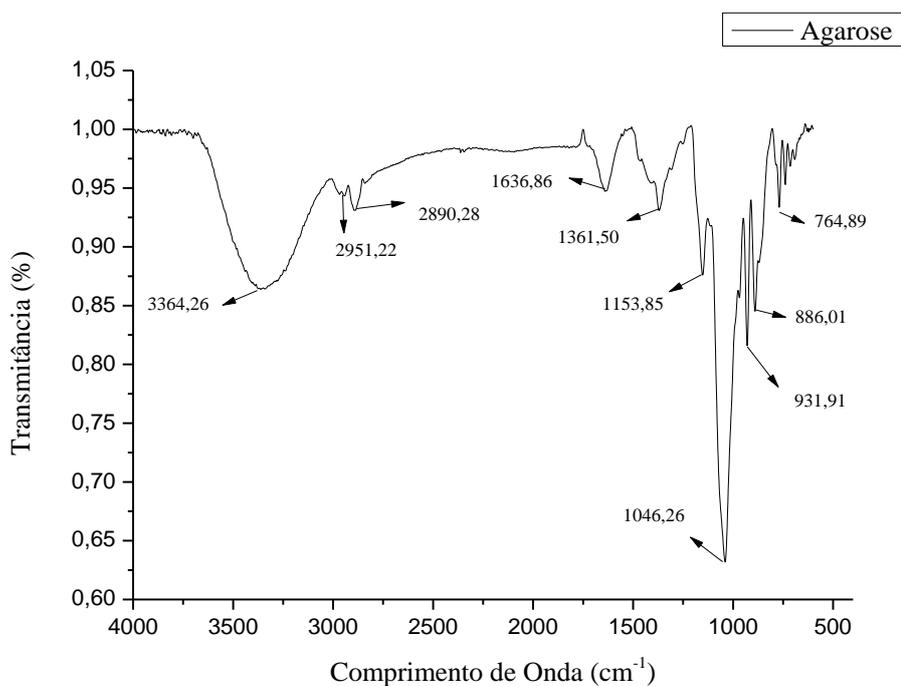


Figura 26. Espectro de absorção vibracional na região do infravermelho com transformada de Fourier da Ciprofloxacina utilizada para a produção dos filmes.

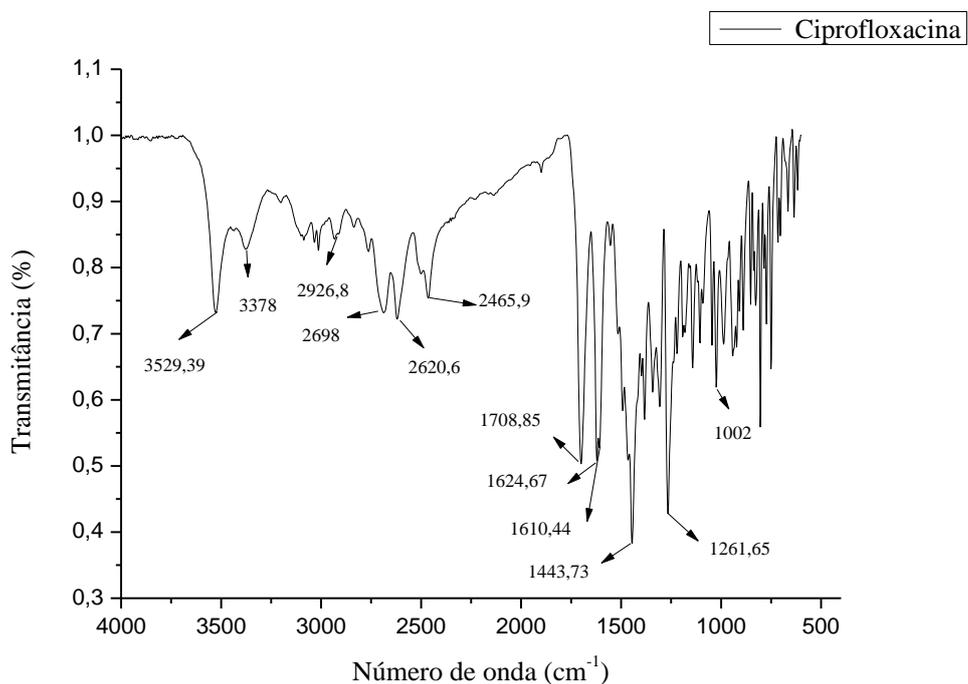
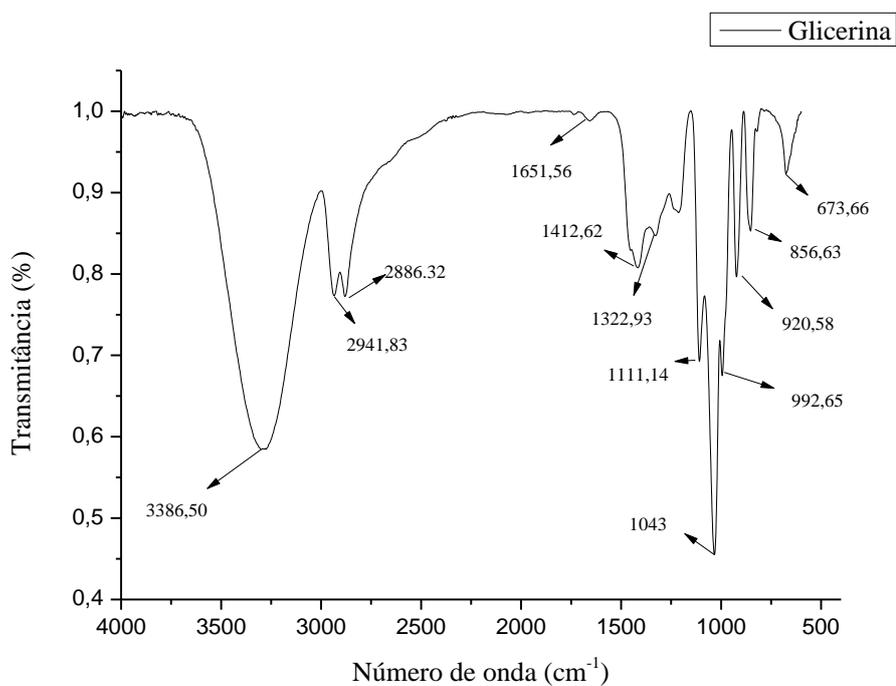


Figura 27. Espectro de absorção vibracional na região do infravermelho com transformada de Fourier da glicerina utilizada como agente plastificante para a produção dos filmes.



Os espectros de absorção vibracional na região do infravermelho com transformada de Fourier demonstraram a existência de bandas em 3279 cm^{-1} nos filmes de agarose, 3274 cm^{-1} nos filmes de agarose incorporados com Ciprofloxacina, 3269 cm^{-1} nos filmes de agarose incorporados com uma grande quantidade de Ciprofloxacina, 3364 cm^{-1} para a agarose, 3529 a 3378 cm^{-1} na Ciprofloxacina e 3386 cm^{-1} para a glicerina são atribuídas à deformação axial de grupamento hidroxila (O-H) presentes em suas estruturas.

As bandas presentes na região entre 2938 a 2883 cm^{-1} nos filmes de agarose, 2937 a 2883 cm^{-1} nos filmes de agarose incorporados com Ciprofloxacina, 2937 a 2883 cm^{-1} nos filmes de agarose incorporados com uma superdose de Ciprofloxacina, 2951 a 2890 cm^{-1} para a agarose, 2926 cm^{-1} na Ciprofloxacina e 2941 a 2886 cm^{-1} para a glicerina, são referentes à vibração C-H do grupo alcano.

As bandas presentes na região entre 1656 cm^{-1} nos filmes de agarose, 1651 cm^{-1} nos filmes de agarose incorporados com Ciprofloxacina, 1630 cm^{-1} nos filmes de agarose incorporados com uma superdose de Ciprofloxacina e 1646 cm^{-1} para a glicerina, são referentes ao estiramento vibracional da ligação da hidroxila com um hidrogênio (H-OH).

As bandas entre 1415 cm^{-1} para os todos os filmes poliméricos formados, 1361 cm^{-1} para a agarose, 1443 cm^{-1} para a Ciprofloxacina e 1412 cm^{-1} para a glicerina referem-se à deformação axial simétrica e assimétrica de C-H em grupos funcionais metileno (CH₂). Nos filmes de agarose com incorporação da Ciprofloxacina (dosagem usual e superdose) essa vibração também pode se referir ao ciclo-alcanos presentes na estrutura da Ciprofloxacina o que nos revela uma possível incorporação do fármaco no filme, a qual já foi demonstrada através dos espectros de absorção na região do Ultravioleta-Visível.

A banda na região entre 1034 a 1110 cm^{-1} nos filmes poliméricos produzidos, 1046 a 1153 cm^{-1} para a agarose e 1043 a 1111 cm^{-1} para a glicerina, referem-se à deformação angular de C-O-C dos anéis dos carboidratos presentes na estrutura dos polímeros, e aos grupamentos laterais C-OH e C-H.

As análises no espectro da Ciprofloxacina demonstram que as bandas entre 1624 e 1610 cm^{-1} pode ser atribuídas ao grupamento quinolônico. A banda em 1708 cm^{-1} representa o estiramento da carbonila (C = O). A banda em 1002 cm^{-1} se refere ao grupamento C-F. As bandas entre 1384 a 1340 cm^{-1} sugerem a vibração da flexão grupo OH que se mostrou presente em ácido carboxílico.

Tabela 9. Atribuição das bandas de absorção vibracional na região do infravermelho com transformada de Fourier.

| Material | Frequência (cm ⁻¹) | Grupo funcional | Referências ¹ |
|--|--------------------------------|---|-------------------------------------|
| Filmes poliméricos, agarose, Ciprofloxacina e glicerina. | 2951 - 2883 | Deformação axial simétrica e assimétrica de C-H | (1) (2) (5) (6) (7) (8) |
| Filmes poliméricos, agarose, Ciprofloxacina e glicerina. | 3529 - 3269 | Deformação axial da hidroxila (O-H) | (1) (2) (3) (4) (5) (6) (7) (8) (9) |
| Filmes poliméricos, agarose, Ciprofloxacina e glicerina. | 1361 - 1443 | Deformação axial simétrica e assimétrica de C-H em grupos funcionais metileno (CH ₂). | (1) (2) (3) (4) (5) (6) (7) (8) (9) |
| Filmes poliméricos, agarose e glicerina. | 1656 - 1630 | Deformação angular de O-H em moléculas de água | (1) (2) (3) (4) (5) (6) (7) (8) (9) |
| Filmes poliméricos, agarose e glicerina. | 1034 - 1153 | Deformação angular de C-O-C | (1) (2) (3) (4) (5) (6) (7) (8) (9) |
| Ciprofloxacina | 1624 - 1610 | Grupo quinolonico | (3) (4) (9) |
| Ciprofloxacina | 1002 | Ligação C-F | (3) (4) (9) |
| Ciprofloxacina | 1708 | C = O | (3) (4) (9) |
| Ciprofloxacina | 1384 - 1340 | OH | (3) (4) (9) |

(1) MEENA et al., 2007; (2) VAQUERO et al., 2010; (3) NAYAK et al., 2011; (4) SAHOO et al., 2012; (5) ZHANG et al., 2012; (6) SILVA et al., 2013; (7) SHAMSURI et al., 2013; (8) KONDAVEETIA et al., 2014; (9) SAHOO et al., 2011.

5. 5. 3 Espectroscopia Ramam

A espectroscopia Raman é uma técnica que utiliza o espalhamento inelástico de um feixe de luz monocromático, com o intuito de se obter informações químicas das

amostras analisadas. Neste trabalho foram realizadas análises de espectroscopia Raman dos filmes de agarose (Figura 28), dos filmes de agarose com incorporação de Ciprofloxacina (Figura 29), do pó da agarose (Figura 30), do pó da Ciprofloxacina (Figura 31) e da glicerina (Figura 32).

Figura 28. Espectro Raman do filme de agarose.

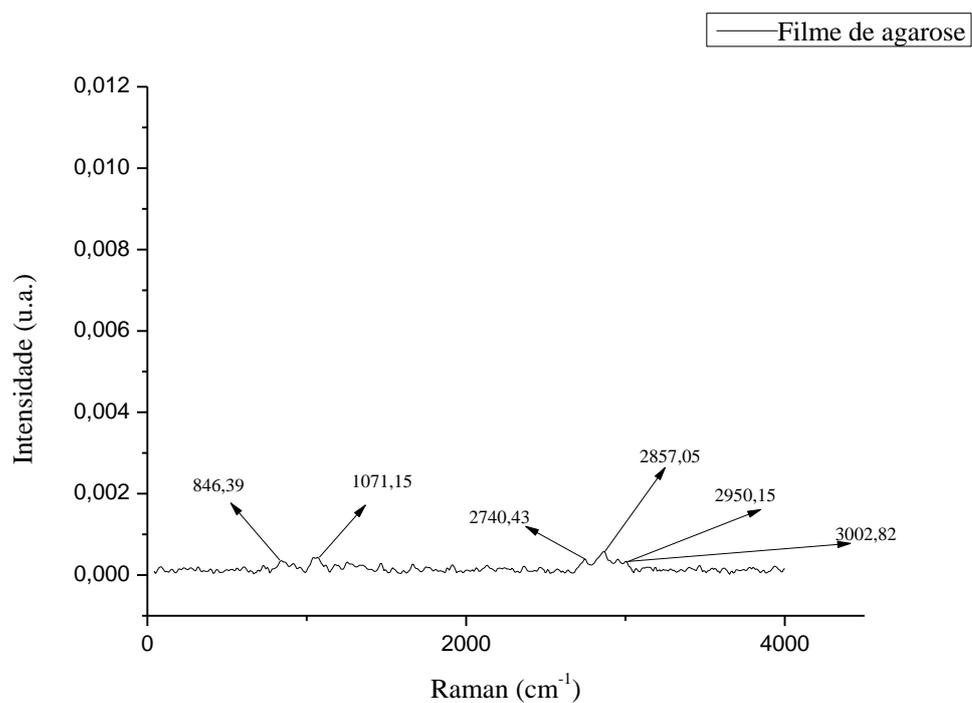


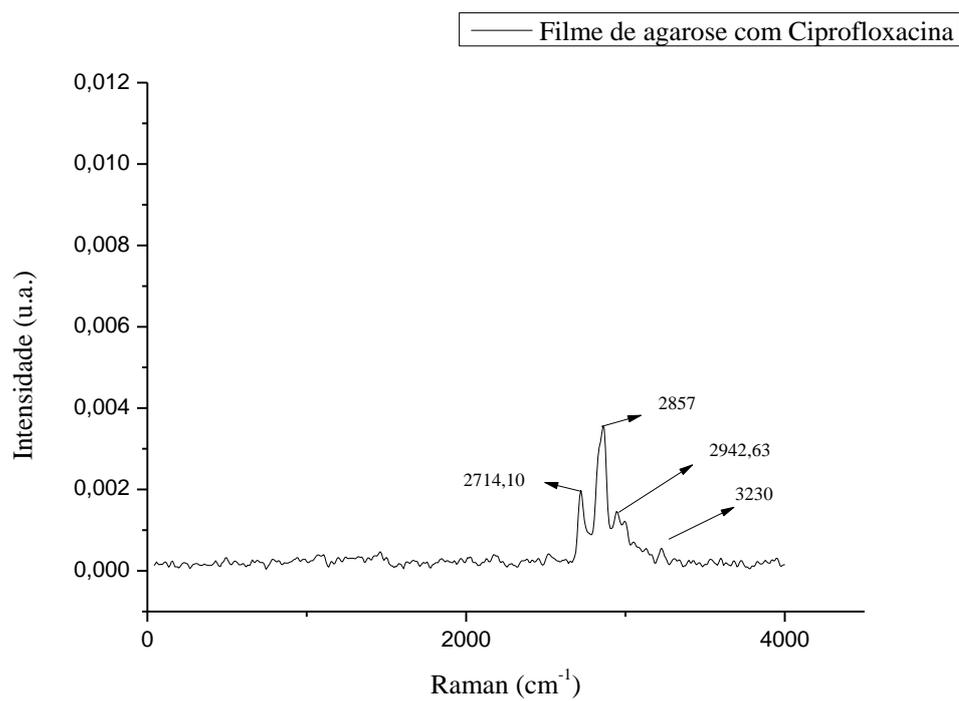
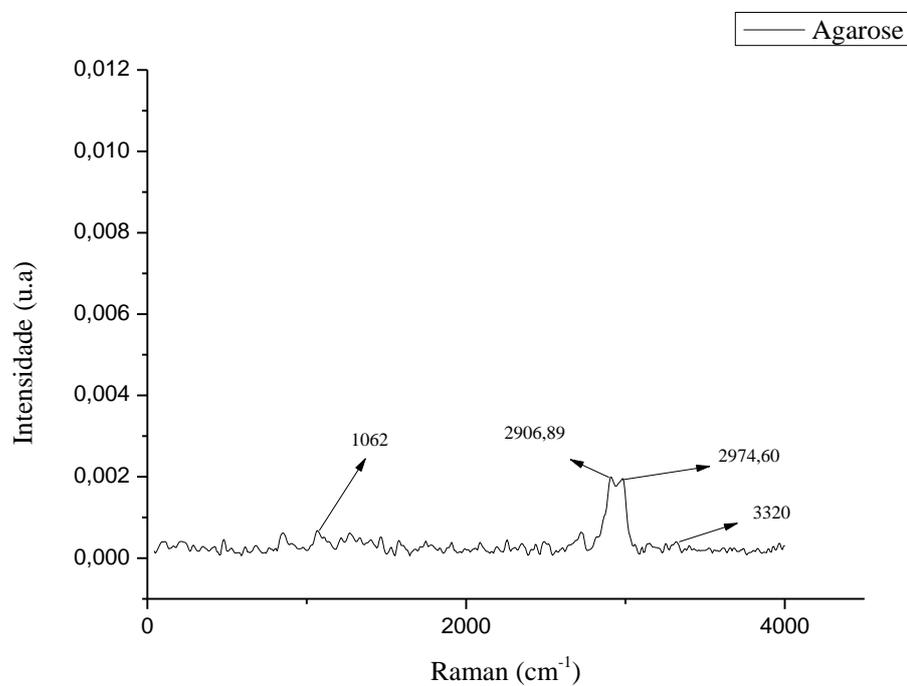
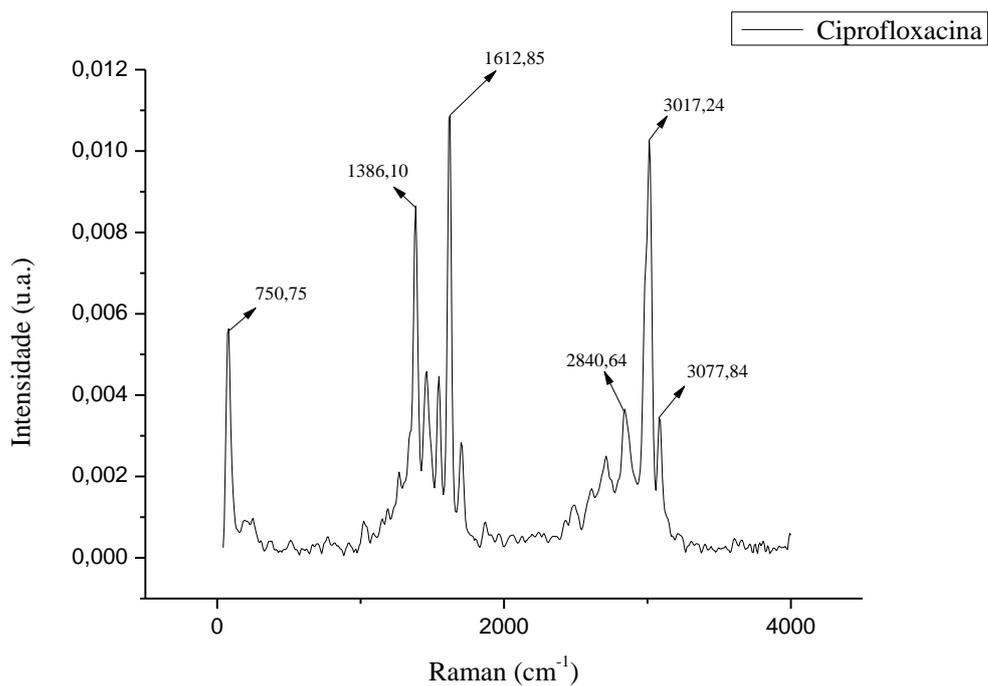
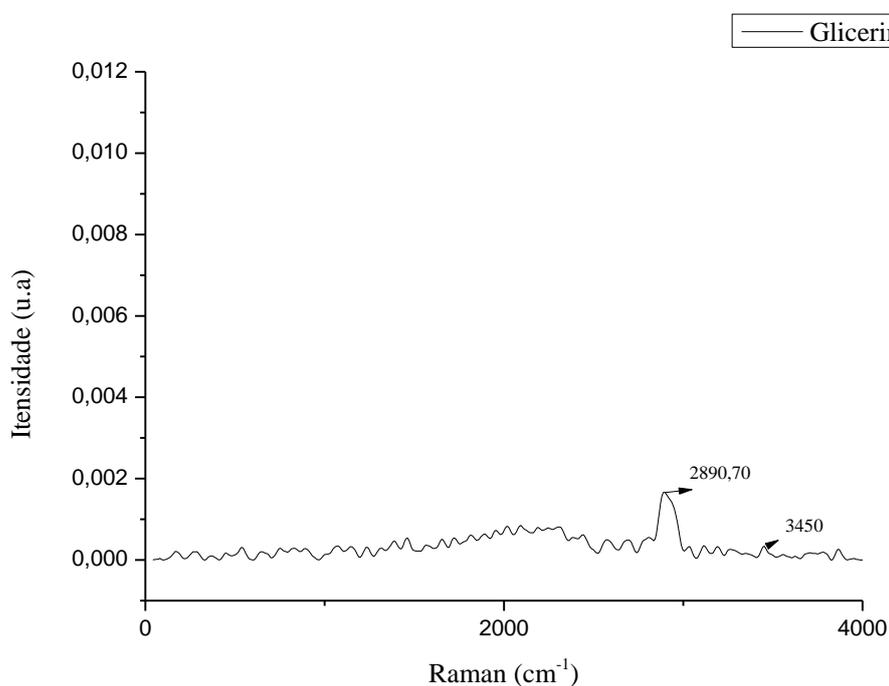
Figura 29. Espectro Raman do filme de agarose incorporado com Ciprofloxacina.**Figura 30.** Espectro Raman da agarose.

Figura 31. Espectro Raman da Ciprofloxacina.**Figura 32.** Espectro Raman da glicerina.

As análises da espectroscopia Raman demonstram os picos em 3002 cm⁻¹ nos filmes de agarose, 3230 cm⁻¹ nos filmes de agarose incorporados com Ciprofloxacina, 3320 cm⁻¹ para a agarose, 3077 a 3017 cm⁻¹ na Ciprofloxacina e 3450 cm⁻¹ para a

glicerina são atribuídas à deformação axial de grupo hidroxila (O-H) presentes em suas estruturas químicas.

As bandas presentes na região entre 2950 a 2740 cm^{-1} nos filmes de agarose, 2942 a 2714 cm^{-1} nos filmes de agarose incorporados com Ciprofloxacina, 2974 a 2906 cm^{-1} para a agarose, 2840 cm^{-1} na Ciprofloxacina e 2890 cm^{-1} para a glicerina, são referentes à vibração do grupo Alcano (C-H).

As análises de espectroscopia Raman para a Ciprofloxacina, demonstram a existência de bandas na região de 1612 cm^{-1} referente ao estiramento da carbonila (C = O). O pico em 1386 cm^{-1} refere-se ao ácido carboxílico (-O-C-O-). As bandas em 750 cm^{-1} são referentes à ligação C-F da Ciprofloxacina.

Podemos considerar a espectroscopia Raman e a espectroscopia na região do infravermelho com transformada de Fourier, como sendo técnicas irmãs, pois apesar da natureza dos fenômenos que a produzem serem diferentes (absorção e espalhamento) elas contem informações similares, podendo nos fornecer dados sobre possíveis interações entre os componentes utilizados para a síntese dos filmes poliméricos produzidos nessa pesquisa.

Tabela 10. Assinalamento das bandas de absorção vibracional na região do infravermelho com transformada de Fourier e de Raman.

| Amostra | Grupo | FT-IR | Raman | Ref. ^a |
|---|-------|-------------|-------------|---|
| Filmes poliméricos, Ciprofloxacina, agarose, glicerina | O - H | 3529 a 3269 | 3230 a 3002 | (1) (2) (3) (4) (5) (6) (7) (8) (9) (10) (11) |
| Filmes poliméricos, Ciprofloxacina, agarose, glicerina | C-H | 2951 a 2883 | 2974 a 2740 | (1) (2) (3) (4) (5) (6) (7) (8) (9) (10) (11) |
| Ciprofloxacina | C=O | 1708 | 1612 | (3) (4) (9) (12) |
| Ciprofloxacina | O-C-O | 1034 a 1153 | 1386 | (3) (4) (9) (12) |
| Ciprofloxacina | C-F | 1002 | 750 | (3) (4) (9) (12) |

^a(1) MEENA et al., 2007; (2) VAQUERO et al., 2010; (3) NAYAK et al., 2011; (4) SAHOO et al., 2012; (5) ZHANG et al., 2012; (6) SILVA et al., 2013; (7) SHAMSURI et al., 2013; (8) KONDAVEETIA et al., 2014; (9) SAHOO et al., 2011; (10) GADOMSKA et al., 2004; (11) GUARROTXENA et al., 2012; (12) SKOULIKA et al., 2011.

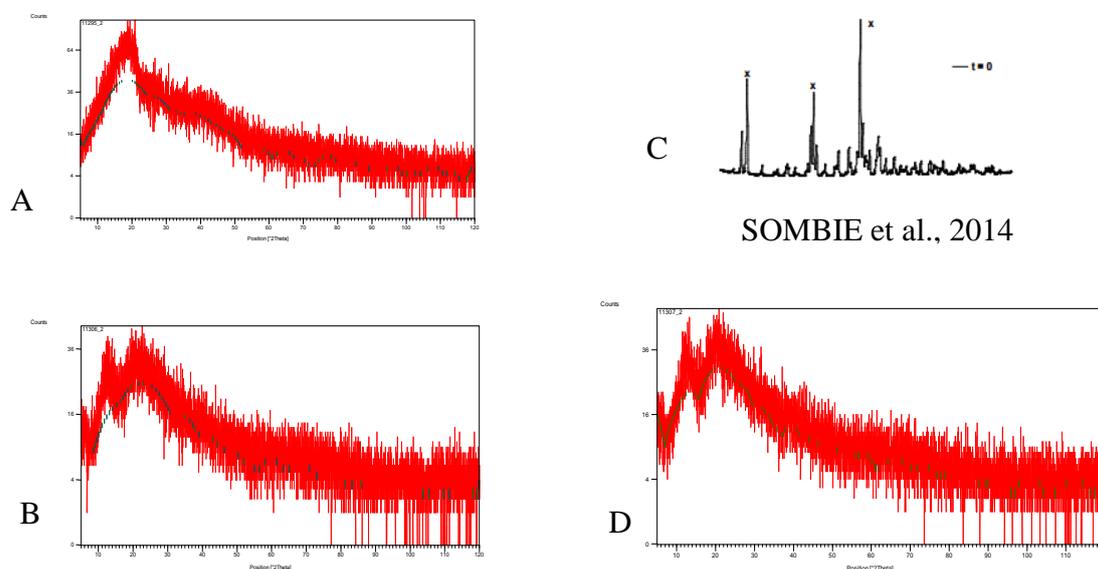
Ao analisarmos os gráficos obtidos por ambas as técnicas (FT-IR e Raman), para os filmes poliméricos de agarose com e sem Ciprofloxacina, pode-se observar que não houve alterações significativas nos espectros do polímero após a incorporação do fármaco. Ao analisar comparativamente os espectros do filme de agarose antes e após a incorporação, é possível verificar que as principais bandas de absorção foram mantidas após a incorporação sugerindo que a presença do agente antibacteriano preservou a estrutura química original do filme de agarose. Isso pode ser em função da pequena concentração do fármaco, cerca de 5% do peso total do filme polimérico, e ao fato da Ciprofloxacina e a agarose apresentarem várias bandas de absorção em comum. Esse comportamento também foi observado por Nayak et al. (2011) que ao preparar implantes para ossos de hidroxiapatita contendo Ciprofloxacina, não foi observado as bandas referentes ao fármaco após a incorporação. É importante salientar, que apesar de não terem ocorridos picos referentes à Ciprofloxacina nas análises dos filmes poliméricos incorporados, sua presença foi confirmada através dos espectros de varredura na região do Ultravioleta-visível pelo espectrofotômetro (item 5.2.1) e sua ação antimicrobiana foi mantida, como será descrito no item 5.7.

Os gráficos de FT-IR para os filmes poliméricos também demonstraram picos característicos da absorção de água ($1656 - 1630 \text{ cm}^{-1}$). Ambas as técnicas demonstraram uma grande intensidade nas bandas referentes aos grupos OH e CH_x , ocasionado pelo fato desses grupos funcionais estarem presentes na composição de quase todos os componentes envolvidos para a formulação das soluções filmogênicas (agarose, glicerina e Ciprofloxacina).

5. 5. 4 Difração de raios-X (DRX)

A DRX é a uma técnica de caracterização de materiais, sendo a mais indicada na determinação das fases amorfas e cristalinas presentes em materiais orgânicos ou inorgânicos, permitindo a identificação da composição mineralógica dos mesmos. As Figuras 34 a seguir apresentam os gráficos de DRX obtidos para (A) a agarose (pó), (B) para os filmes de agarose, (C) para a Ciprofloxacina (pó) e (D) para os filmes de agarose com Ciprofloxacina.

Figura 33. Gráficos de DRX obtidos para (A) a agarose (pó), (B) para os filmes de agarose, (C) para a Ciprofloxacina (pó) e (D) para os filmes de agarose com Ciprofloxacina.



Quando os raios-X interagem com um material cristalino eles geram um padrão de difração, cada componente tem seu padrão, que representa a sua identidade. Quanto maior o número de cristais em um plano de uma estrutura, mais intensos, pontiagudos e estreitos serão os picos no difratograma, podendo-se identificar por picos de difração de Bragg os elementos que compõe o material. Quando os feixes de raios-X não conseguem ultrapassar as franjas de espaçamentos formados pelos átomos dos planos cristalográficos de forma a estabelecer picos bem definidos, diz-se então que a estrutura está amorfa, ou seja, sem organização dos cristais, sendo impossível definir qualitativamente os elementos, pois a parcela amorfa gera picos mais largos e menores (SALCEDO et al., 2008; RAPHAEL 2010; SANCHES 2011).

As análises por DRX para a agarose demonstraram seu pico característico de acordo com os estudos de Raphael (2010), onde ocorre a ausência de picos definidos, com o aparecimento apenas de um único pico largo, caracterizando assim uma estrutura amorfa.

Nos difratogramas dos filmes de agarose e dos filmes de agarose com a incorporação Ciprofloxacina, foi observado que as características amorfas da agarose foram preservadas durante o processo de síntese dos filmes. Acredita-se que isso ocorreu, devido ao fato do polímero ser a substância em maior quantidade nos filmes produzidos. A incorporação do agente antimicrobiano não alterou a estrutura do

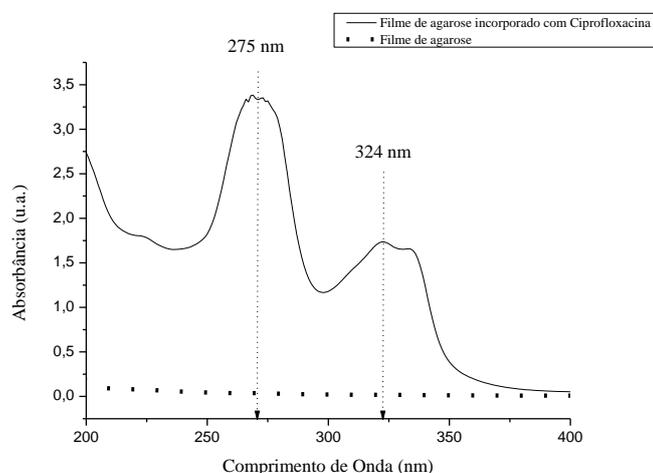
polímero, no entanto não foi possível observar os picos característicos da Ciprofloxacina descritos na literatura (MEYAGUSKU, 2014), o que pode ser explicado mais uma vez, pela pequena quantidade do fármaco que é incorporada ao polímero. A ausência da observação dos picos característicos da Ciprofloxacina evidencia que, possivelmente, o antibiótico encontra-se distribuído homogeneamente de forma molecular.

5. 6 Caracterização dos filmes poliméricos em relação a interação com a Ciprofloxacina

5. 6. 1 Ensaio Liberação da Ciprofloxacina dos filmes poliméricos

Para a avaliação preliminar da liberação da Ciprofloxacina através dos filmes de agarose, os filmes permaneceram em água por quatro dias, tempo médio de uso de hidrogéis como curativos em estufa a 37 °C em sistema estático, de forma a detectar a possível liberação de Ciprofloxacina para o meio (Figura 34). As análises foram feitas em duplicata e observou-se a presença do pico em 272 nm característico da Ciprofloxacina após quatro dias, o que não foi observado na amostra que não foi incorporada com a Ciprofloxacina.

Figura 34. Espectro de absorção da Ciprofloxacina (preto) e da agarose (vermelho) na região do UV-Vis demonstrando a liberação do antibiótico em relação ao tempo, após quatro dias de imersão em água.



Em seguida, com o intuito de se avaliar o perfil cinético de liberação da Ciprofloxacina, realizou-se um ensaio com os filmes de agarose com a quantidade usual de Ciprofloxacina (2,2 mg) e com filmes com uma quantidade superior a que foi usada neste trabalho (22 mg). Na Figura 35 a seguir é possível observarmos o gráfico da liberação da Ciprofloxacina, utilizando a dose usual, por 96 horas. Na Figura 36 tem-se o gráfico da liberação da Ciprofloxacina, com a dose superior, por 144 horas.

Figura 35. Representação gráfica da liberação do fármaco dos filmes de agarose contendo 2,2 mg de Ciprofloxacina durante 96 h.

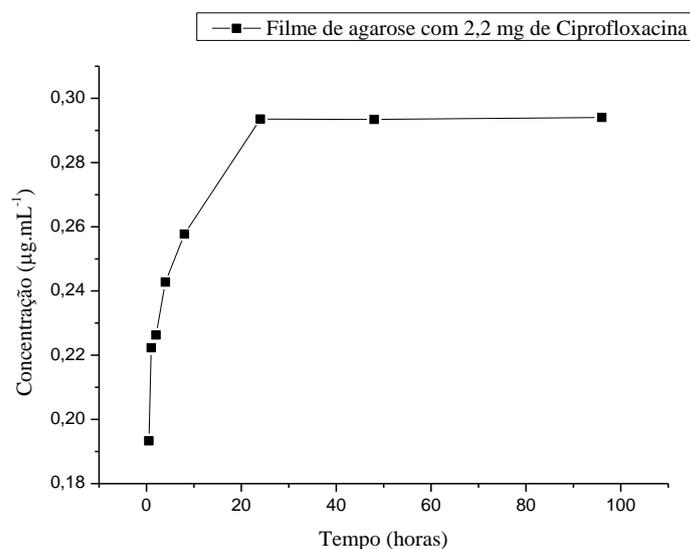
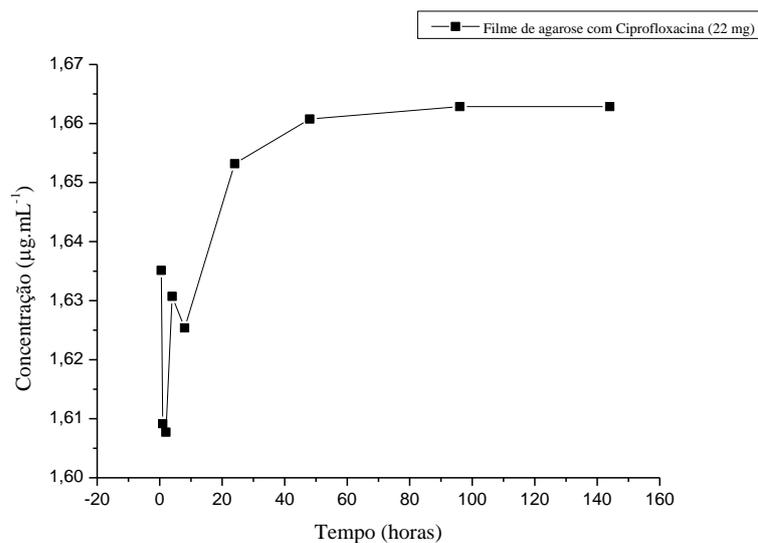


Figura 36. Representação gráfica da liberação do fármaco dos filmes de agarose contendo 22 mg de Ciprofloxacina durante 144 h.



Ao analisarmos a representação gráfica da liberação do fármaco dos filmes de agarose contendo 2,2 mg de Ciprofloxacina durante 96 horas, é possível observar que nas primeiras 24 horas há uma taxa de liberação crescente e que após esse período, a taxa de liberação permanece constante até completar as 96 horas, não havendo alteração na concentração, o que foi considerado bastante satisfatório, porém faz-se necessário um estudo mais aprofundado para avaliar se existe a possibilidade de uma liberação maior de quantidade do fármaco ou se este resultado reflete uma possível saturação do sistema. Já as análises da representação gráfica da liberação do fármaco dos filmes de agarose contendo 22 mg de Ciprofloxacina durante 144 h, demonstrou um comportamento anômalo nas primeiras 8 horas de ensaio, onde foi verificado primeiramente um decréscimo na liberação com primeira hora de ensaio, em seguida obteve um acréscimo na quarta hora de ensaio, que continuou até que se completasse 24 horas de ensaio. A partir das primeiras 24 horas os filmes permaneceram estáveis, sem alterações no nível de concentração, até que se completasse às 144 horas de experimento.

Foram realizados ensaios com os filmes poliméricos de agarose, como controle negativo, o qual não apresentou picos no espectro.

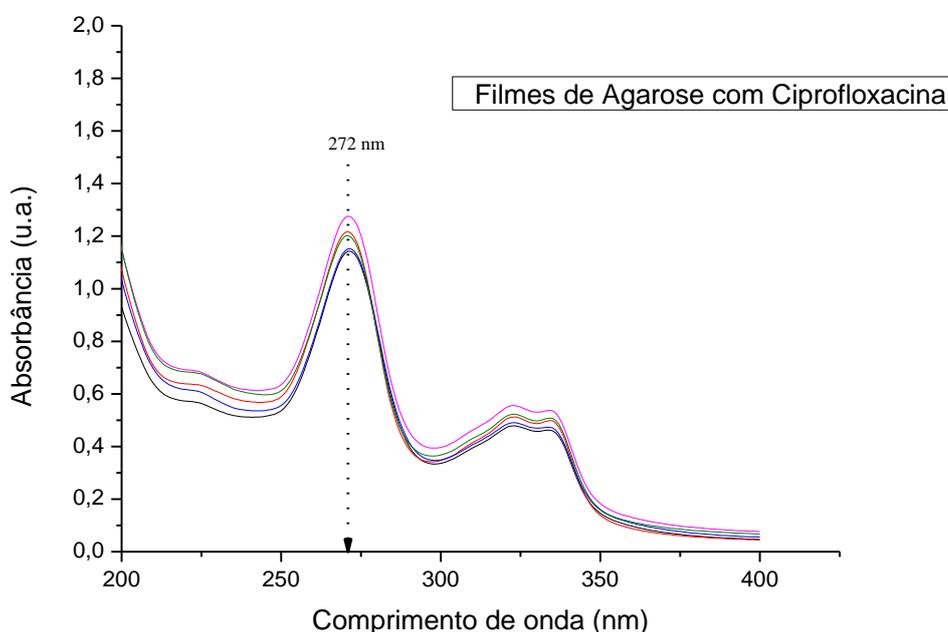
Ogawa e Plepis (2002) em seu trabalho com compósitos de Hidroxiapatita e colágeno incorporados com Ciprofloxacina, verificaram que os compósitos apresentam uma taxa de liberação decrescente no decorrer do ensaio, visto que a quantidade de droga liberada diminui com o tempo, atingindo um valor constante em cerca de 40 horas após o início do ensaio. No presente trabalho também foi observado, que ocorre uma liberação rápida do antibiótico nas primeiras horas de imersão, se mostrando como uma vantagem no tratamento da infecção, impedindo que a liberação inicial do antibiótico seja pequena no sítio de ação nas primeiras horas do tratamento o que poderia levar a uma resistência bacteriana.

5. 6. 2 Distribuição da Ciprofloxacina nos filmes poliméricos

A partir da análise dos espectros no UV-Vis, de diferentes regiões do mesmo filme, onde as bandas de absorbância encontram-se bastante próximas, foi possível observar a homogeneidade da Ciprofloxacina incorporada no filme polimérico (Figura 37). De acordo com Garcia et al. (2013), a verificação da homogeneidade, da cor e

sabor constitui-se o método mais simples para avaliar a qualidade do produto, as modificações da cor ou sabor após o processo da fabricação, podem indicar alterações químicas e microbiológicas na formulação. É importante salientar, que a homogeneidade do fármaco nos filmes é de fundamental importância, garantindo que toda a área da pele recoberta pelo filme contenha a substância distribuída uniformemente.

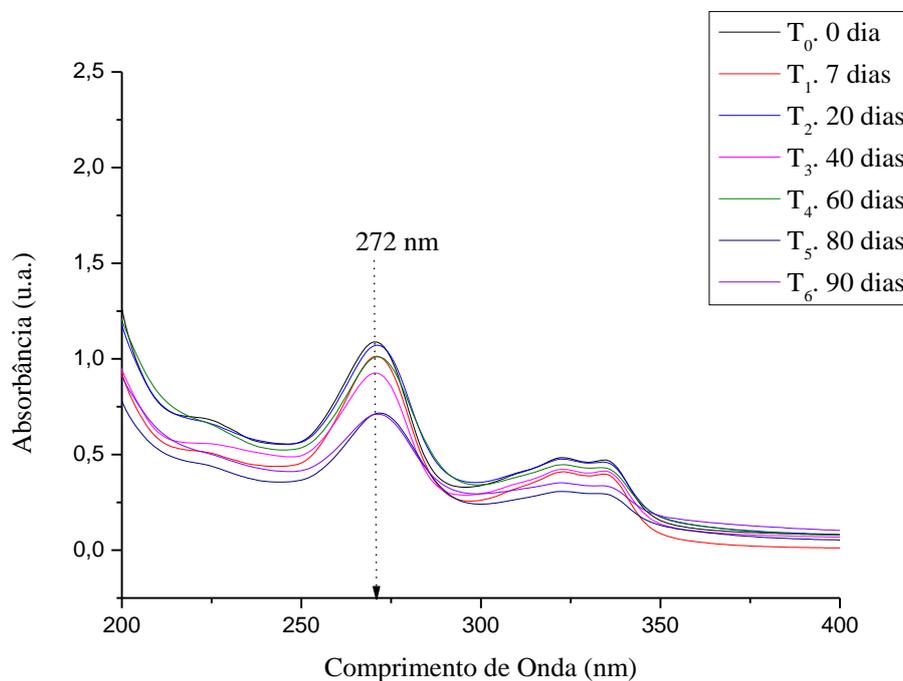
Figura 37. Espectro de absorção eletrônica dos filmes poliméricos de agarose com a incorporação da Ciprofloxacina para diferentes regiões do filme.



5. 6. 3 Estabilidade química da Ciprofloxacina nos filmes poliméricos

Entende-se por estabilidade a capacidade de uma formulação de manter as especificações físicas, químicas, microbiológicas, terapêuticas e toxicológicas. Nesse trabalho o parâmetro para a avaliação da estabilidade química da Ciprofloxacina incorporada ao filme polimérico de agarose, baseou-se na observação dos espectros de absorção no UV-Vis dos filmes produzidos. O ensaio consistiu na aquisição do espectro de absorção do filme de Agarose contendo Ciprofloxacina, em tempos estabelecidos ao longo de três meses (Figura 38). A região de estudo foi entre 200 e 400 nm, onde foi verificada a intensidade do pico máximo de absorção da Ciprofloxacina em 272 nm.

Figura 38. Representação gráfica dos espectros de absorção eletrônica no UV-Vis mostrando a estabilidade da Ciprofloxacina incorporada aos filmes poliméricos de agarose.



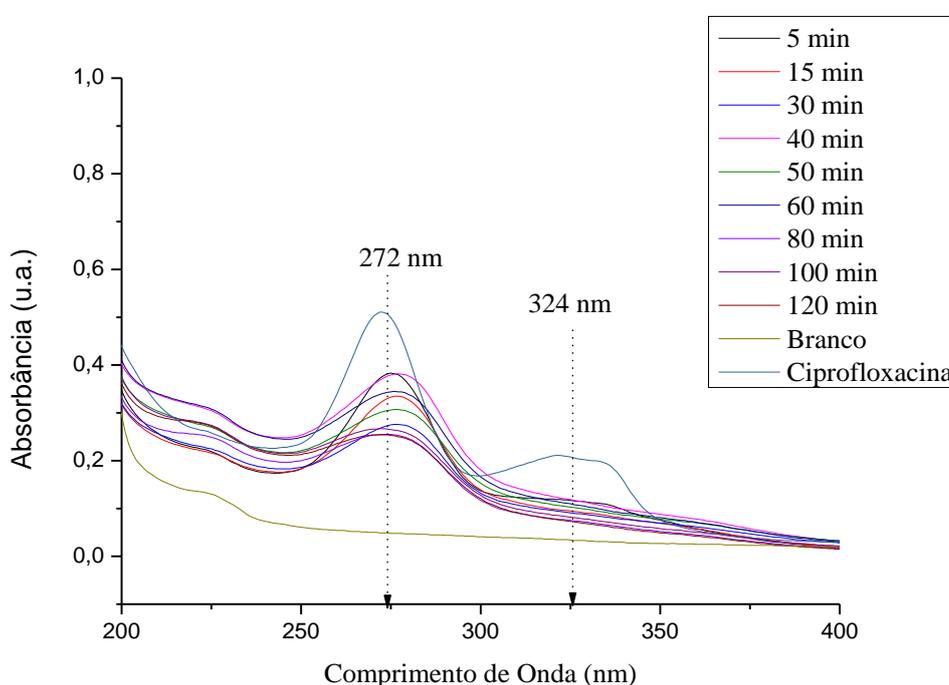
A partir da representação gráfica acima, pode-se observar que a Ciprofloxacina, incorporada aos filmes poliméricos de agarose, demonstra pouca variação na intensidade da absorbância do seu pico máximo característico ($\lambda = 272$ nm), podendo-se inferir que a Ciprofloxacina permanece estável no filme produzido ao longo do tempo. Tal resultado se mostra interessante, pois permite avaliar o tempo médio do possível emprego dos filmes poliméricos de agarose contendo Ciprofloxacina como potencial substituto de pele para pacientes acometidos por queimaduras.

5. 6. 4 Degradação por meio da câmara de fotoestabilidade

Sabe-se que por meio da interação com agentes luminosos e o oxigênio presente na atmosfera os fármacos podem vir a perder a sua estabilidade e se degradar. A determinação da estabilidade fundamenta-se principalmente em uma preocupação com a saúde pública, uma vez que a instabilidade pode estar relacionada com a perda do efeito terapêutico ou a exposição do consumidor a produtos tóxicos de degradação (LIU et al., 2014).

A realização de estudos de estabilidade pretende quantificar a extensão pelas quais as reações induzidas pela luz afetam as formulações dos medicamentos. Nessa pesquisa foi avaliado o comportamento dos picos no UV-Vis ($\lambda = 272$ e 324 nm) da Ciprofloxacina presente nos filmes poliméricos de agarose, frente a sua interação com a luz na região do ultravioleta e do visível (Figura 39) em tempos pré-determinados.

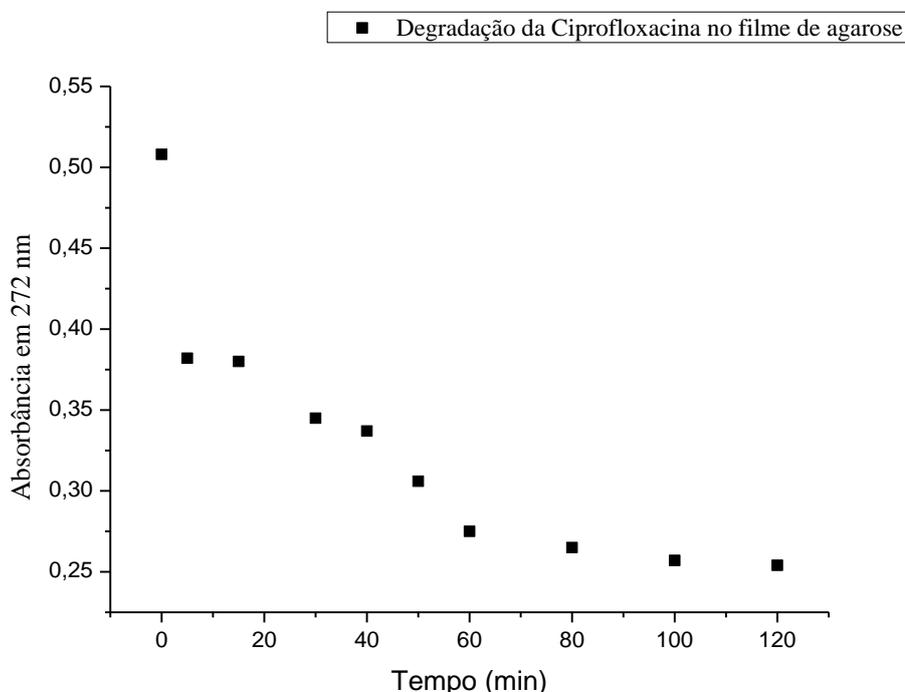
Figura 39. Representação gráfica dos espectros de absorção eletrônica que mostram os resultados do ensaio de degradação da Ciprofloxacina presente nos filmes de agarose por meio da câmara de fotoestabilidade.



Ao analisarmos os resultados é possível identificar que nos primeiros cinco minutos de ensaio ocorre uma grande diminuição da intensidade do pico em 324 nm referente ao grupo amina presente na estrutura da Ciprofloxacina, como também é possível notar uma diminuição na intensidade e um leve deslocamento do pico máximo da Ciprofloxacina em 272 nm referente ao grupo carboxílico.

Na Figura 40 é possível observar o decaimento do valor da absorbância referente ao comprimento de onda 272 nm, da Ciprofloxacina, que ocorre de forma acentuada nos primeiros 60 minutos e sua estabilização nos 60 minutos seguintes.

Figura 40. Representação gráfica da diminuição do pico máximo da Ciprofloxacina ($\lambda = 272$ nm) referente ao ensaio de degradação da Ciprofloxacina presente nos filmes de agarose por meio da câmara de fotoestabilidade.

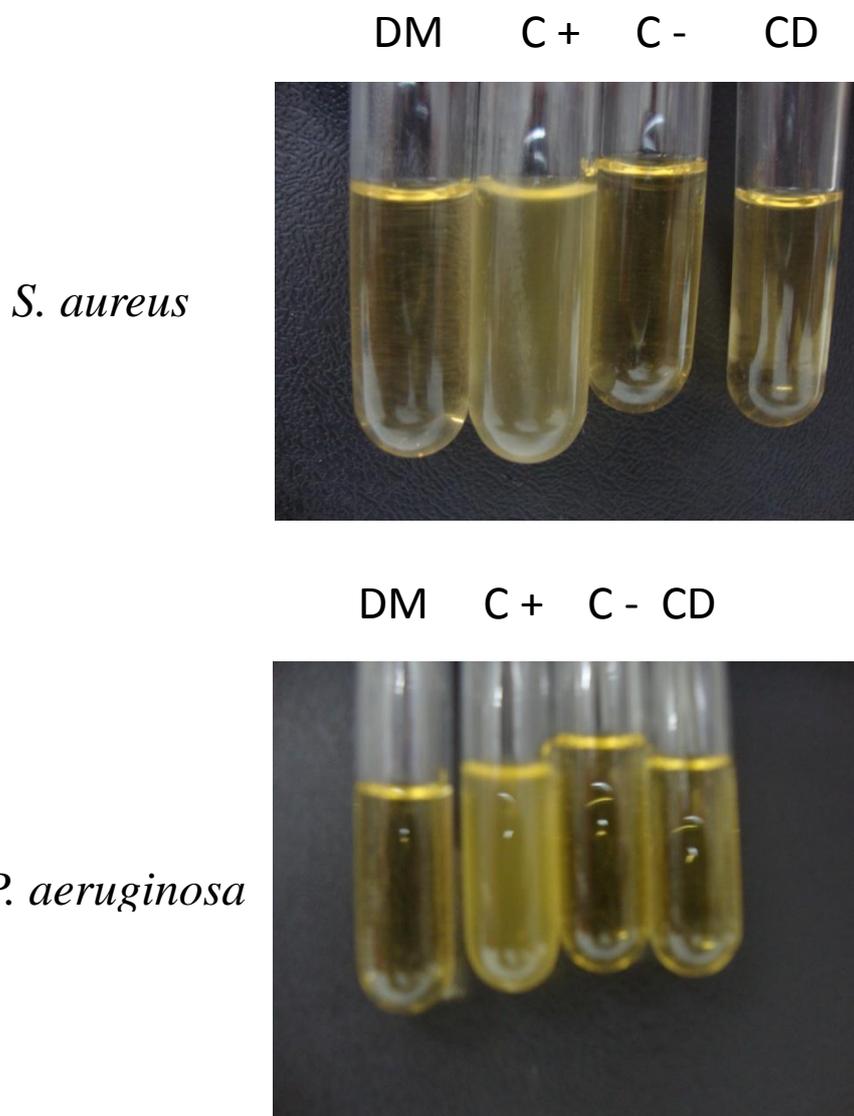


Na literatura é possível encontrarmos a degradação da Ciprofloxacina em solução com valores bastante acentuados (BRITO et al., 2012; LIU et al., 2014; SILVA et al., 2014), porém os resultados sugerem que a incorporação da Ciprofloxacina ao filme polimérico lhe confere um efeito protetor contra as radiações no ultravioleta e no visível.

5.7 Avaliação da atividade antimicrobiana

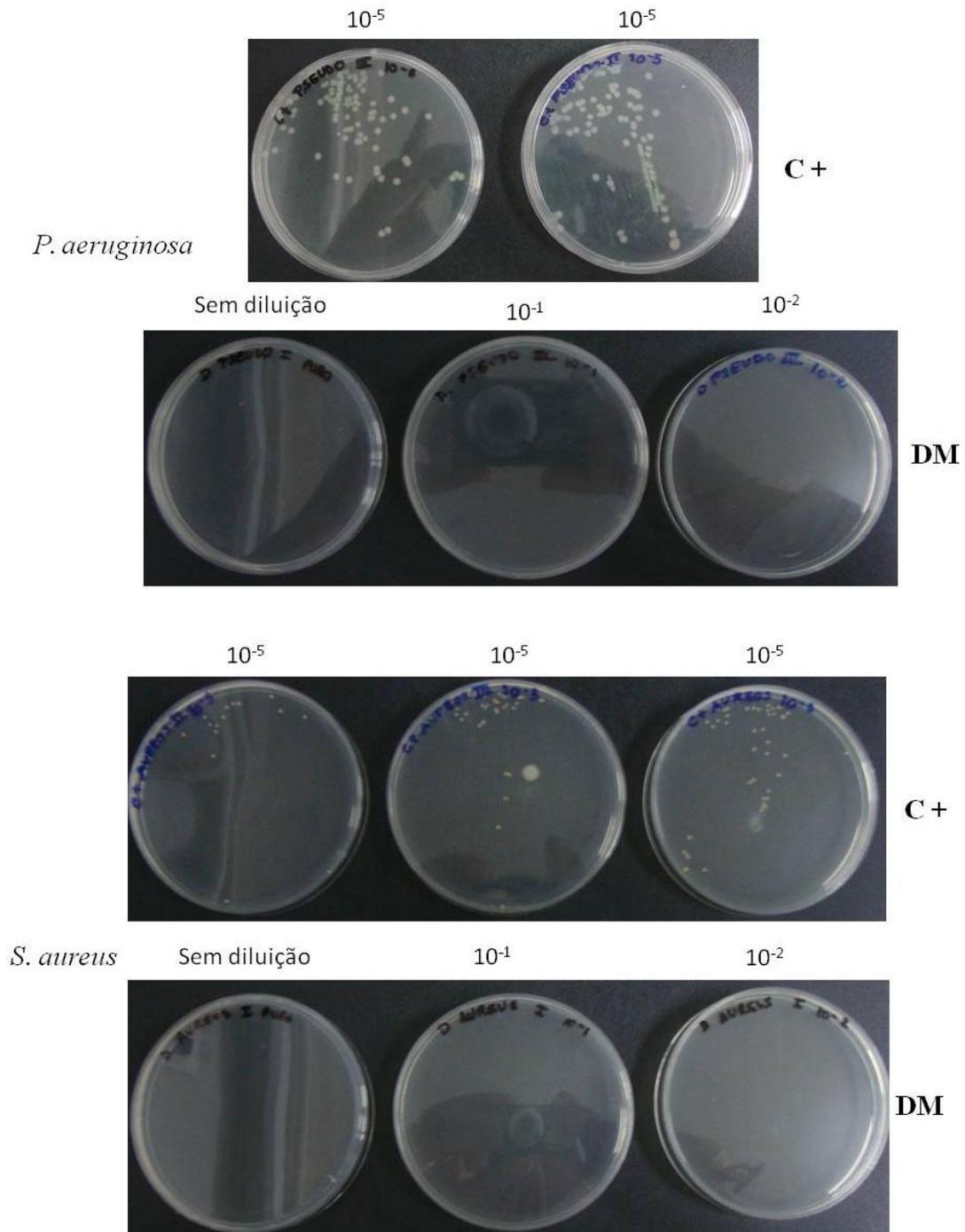
A partir do padrão de turvação dos tubos, comparados com os controles positivo e negativo, observou-se que o filme de agarose incorporado com a Ciprofloxacina apresentou atividade tanto contra *S. aureus* quanto para *P. aeruginosa*. Os resultados da primeira parte do teste de atividade antimicrobiana dos filmes podem ser observados na Figura 41.

Figura 41. Resultado do teste de difusão em meio líquido.



A partir deste dado, foram realizadas diluições seriadas até 10^{-8} para o controle positivo, e 10^{-2} para o tubo referente ao tubo que possuía o filme de agarose com Ciprofloxacina (D M). Após 24 horas estas diluições foram semeadas em rede. Para fins de comparação as placas utilizadas para os tubos C + foram apenas 10^{-5} , já para os tubos DM foram utilizados os tubos puros e as diluições 10^{-1} e 10^2 . Os resultados da segunda parte teste de do teste de atividade antimicrobiana dos filmes podem ser observados na Figura 42.

Figura 42. Resultados dos semeios em rede no teste de atividade antimicrobiana dos filmes.



Na Tabela 11 a seguir é possível observar o número de unidades formadoras de colônias (UFC) a partir dos dados colhidos no resultado dos ensaios. Os resultados se mostram bastantes expressivos visto que os filmes de agarose com Ciprofloxacina obteve um padrão de inibição aproximadamente de 100 em relação ao controle positivo.

Tabela 11. Contagem das unidades formadoras de colônia do semeio em rede para os micro-organismos *S. aureus* e *P. aeruginosa*.

| <i>S. aureus</i> | | | | |
|----------------------|------|-----------|-----------|-----------|
| C+ | | DM | | |
| 10^{-5} | Puro | 10^{-1} | 10^{-2} | 10^{-3} |
| 43. 10^8 | 1 | 0 | 0 | 0 |
| <i>P. aeruginosa</i> | | | | |
| C+ | | DM | | |
| 10^{-5} | Puro | 10^{-1} | 10^{-2} | 10^{-3} |
| 92. 10^8 | 2 | 0 | 0 | 0 |

Cazedey (2009) ao realizar uma análise químico-farmacêutica de cloridrato de Ciprofloxacina em solução oftálmica sem incorporá-la a qualquer polímero, conseguiu uma inibição semelhante à descrita nessa pesquisa pelo método turbidimétrico descrito na Farmacopédia Brasileira (F. Bras. IV, 1988)

6. CONCLUSÕES

A partir da metodologia desenvolvida, foram sintetizados filmes de agarose e filmes de agarose com incorporação da Ciprofloxacina pelo sistema de “casting”. Os filmes apresentaram-se macroscopicamente homogêneos e sem fissuras, aderentes, flexíveis, transparentes e com uma espessura menor que a da epiderme humana, tais parâmetros possibilitam a sua possível utilização como um substituto temporário de pele.

As análises de espectroscopia de absorção eletrônica no UV-Vis, FT-IR e Raman, comprovaram a incorporação da Ciprofloxacina nos filmes poliméricos, bem como, possíveis interações químicas do fármaco com a matriz polimérica. Foram realizadas também análises por MEV, constatando que os filmes encontram-se superficialmente uniformes, e análises DRX que comprovaram a característica amorfa da estrutura do polímero.

O antibiótico se apresentou distribuído uniformemente nos filmes, e sua liberação se deu de forma rápida nas primeiras 24 horas, permanecendo estável durante 96 horas.

A incorporação do antibiótico aos filmes resultou em um aumento na sua resistência mecânica, e em uma melhoria em suas propriedades hidrocópicas.

Os filmes apresentaram ação antimicrobiana com a inibição de 100% das colônias dos micro-organismos *S. aureus* e *P. aeruginosa*.

Os filmes se mostram estáveis e íntegros tanto em temperatura ambiente, quanto em meio aquoso.

Os resultados obtidos se apresentaram satisfatórios, tendo em vista que ficou comprovada a possibilidade de utilização do biopolímero como substituto temporário de pele, o qual possui características adequadas para esse fim, tais como, seu caráter hidrofílico, sua estrutura amorfa e maleável, e principalmente sua propriedade antimicrobiana, adquirida através da interação da matriz polimérica com o fármaco estudado.

7. PERSPECTIVAS

Objetiva-se realizar análises de Ressonância Magnética Nuclear a fim de se obter um melhor conhecimento sobre a estrutura química dos filmes poliméricos sintetizados, bem como, realizar análises térmicas, tais como Termogravimétrica (TGA) e Análise Térmica Diferencial (DTA), com o objetivo de se avaliar suas propriedades e comportamentos frente a processos térmicos.

Testar a utilização dos filmes poliméricos, elaborados nessa pesquisa, para outras finalidades, tais como, para tratamentos oculares e scaffolds para cultura de células, a fim de se observar o comportamento da matriz polimérica frente a outros tratamentos e empregos.

Realizar análises de Espectroscopia de Absorção no Infravermelho e Raman, partindo-se de uma quantidade mais elevada da Ciprofloxacina nos filmes poliméricos, com o objetivo de analisar o comportamento e a intensidade dos picos atribuídos à Ciprofloxacina na matriz polimérica.

8. REFERÊNCIAS

AHMED, M. G., HARISH, N. M., CHARYULU, R. N., PRABHU, P. Formulation of chitosan-based ciprofloxacin and diclofenac film for periodontitis therapy. **Tro. Jour. of Pharm. Rese.** v. 8, n. 1, p. 33-41, 2009.

ALMEIDA, D. M., WOICIECHOWSKI, A. L., WOSIACKI, G., PRESTES, R. A., PINHEIRO, L. A. Propriedades Físicas, Químicas e de Barreira em Filme Formados por Blenda de Celulose Bacteriana e Fécula de Batata. **Polímeros.** v. 23, n. 4, p. 538-546, 2013.

ALMEIDA, G. W. R. **Desenvolvimento e caracterização de filmes nanocompósitos de base celulósica e sua avaliação como embalagem ativa antimicrobiana.** 2010. 97 p. Dissertação (Mestrado em Ciência e Tecnologia de Alimento). Programa de Pós-Graduação em Ciência e Tecnologia de Alimento, Universidade Federal de Viçosa. Viçosa,

ANDRADE, M. G. L., CAMELO, C. N., CARNEIRO, J. A., TERÊNCIO, K. P. Evidence of changes in the healing process of burns in diabetic subjects: literature review. **Rev. Bras. Queimaduras.** v. 12, n. 1, p. 42-48, 2013.

BAPTISTUCCI, C. B. **Degradação do antibiótico Ciprofloxacina em solução aquosa por meio de processo oxidativo avançado baseado em ozônio.** 2012. Dissertação (Mestrado em Engenharia), Escola Politécnica da Universidade de São Paulo, São Paulo.

BARRA, I. D., RODRIGUES, K. V. M. Utilização de matrizes dérmicas no tratamento de queimaduras. **Rev. Bras. Queimaduras.** v. 13, n. 2, p. 83-89, 2014.

BHALERAO, S. R., ROTE, A. R. Application of uv spectrophotometric methods for estimation of ciprofloxacin and tinidazole in combined tablet dosage form. **Int. J. Pharm. Sci.** v. 4, n. 3, p. 646-467, 2012.

BOLGIANI, A. N., SERRA, M. C. V. F. Atualização no tratamento local das queimaduras. **Rev. Bras. Queimaduras.** v. 9, n. 2, p. 38-44, 2010.

BRITO, C. R. F. MELO, I. P. NETO, J. C. Tratabilidade química e biológica de efluente farmacêutico contendo Ciprofloxacina. **Rev. de estudos ambientais (Online)** v. 14, n. 3, p. 6-16, 2012.

BUNHAK, E. J., MENDES, E. S., PEREIRA, N. C; CAVALCANTI, O. A. Influência do sulfato de condroitina na formação de filmes isolados de polimetacrilato: avaliação do índice de intumescimento e permeabilidade ao vapor d'água. **Quim. Nova,** v. 30, n. 2, p. 312-317, 2007.

CAMARGO, F. B. **Desenvolvimento de formulações cosméticas contendo pantenol e avaliação dos seus efeitos hidratantes na pele humana por bioengenharia cutânea.** 2006. 156 f. Dissertação (Mestrado em Ciências Farmacêuticas). Faculdade de Ciências Farmacêuticas de Ribeirão Preto, Ribeirão Preto.

CAMPELO, S. R. ***Leishmania (L.) Amasonensis* inibe a maturação e a função ativadora das células de Langerhans da pele tratadas com TNF- α E anti-CD40 *in vitro***. 2014. 61 f. Tese (Doutorado em Neurociência e Biologia Celular). Universidade Federal do Pará, Belém.

CANDIAN, L.M. **Estudo do Polietileno de alta densidade reciclado para uso em elementos estruturais**. 2007. 153 p. Dissertação (Mestrado em Engenharia de Estruturas). Escola de Engenharia de São Carlos, Universidade de São Paulo, São Carlos.

CAZEDEY, E. C. L. **Análise químico-farmacêutica de Cloridrato de Ciprofloxacina em solução oftálmica**. 2009. Dissertação (Mestrado em Ciências Farmacêuticas). Faculdade de Ciências Farmacêuticas, Araraquara,

CAZEDEY, E. C. L., SALGADO, H. R. N. Spectrophotometric Determination of Ciprofloxacin Hydrochloride in Ophthalmic Solution. **Physi. Chemistry**. v. 2, n. 6, p. 116-122, 2012.

COSTA, H. O., SOUZA, F. C. Avaliação da regeneração tecidual da pele de porco submetida à lesão térmica seguida de colocação de Biotissue®. **ACTA ORL/ Técnicas em Otorrinolaringologia**. v. 23, p. 23-27, 2005.

FARIA, G. O., MARTINS, A. G., PENATTI, M. P. A., PEDROSO, R. S. Características *in vitro* de isolados do complexo *cryptococcus laurentii* em diferentes meios de cultura. **Rev. Patol. Trop**. v. 43, n. 3, p. 290-302, 2014.

FERREIRA, C. S. **Desenvolvimento do processo de obtenção de filme polimérico a partir da cinza da casca de arroz**. 2005. 75p. Dissertação (Mestrado em Engenharia Química). Programa de Pós-graduação em Engenharia Química, Universidade Federal de Santa Catarina. Florianópolis.

FERREIRA, F. C., ELISÂNGELA CORRADINI, E., AGNELLI, J. A. M., MARCONCINI, J. M., LUIZ H.C. MATTOSO, L. H.C., ROSA, M. F. Absorção de Água, Solubilidade em Água, Propriedades Mecânicas e Morfológicas de Compósitos de Glúten de Milho e Poli(hidroxibutirato-co-valerato) (PHBV) Reforçados com Fibras de Coco Verde. **Polímeros**, v. 23, n. 6, p. 807-813, 2013.

FERREIRA, M. C., PAGGIARO, A. O., ISAAC, C., NETO, N. T., SANTOS, G. B. Substitutos cutâneos: conceitos atuais e proposta de classificação. **Rev. Bras. Cir. Plást**. v. 26, n. 4, p. 696-702, 2011.

FILHO, M. A. R. C., FERREIRA, R. B., NUNES, B. B., BORTOLUCCI, G. A. P., FONSECA, I. A. **Modificação Superficial de Ossos para Aplicações em Ortopedia**. 2011. 93 f. Dissertação (Mestrado em Engenharia Biomédica). Faculdade de Ciências e Tecnologia da Universidade de Coimbra, Coimbra,

FORTES, T. M. L., SUFFREDIN, I. B. Avaliação de pele em idoso: revisão da literatura. **Jor. Health Sci. Inst**. v. 32, n. 1, p. 94-101, 2014.

- GADOMSKA, B. R., GADOMSKI, W. Water structure in nanopores of agarose gel by Raman spectroscopy. **The J. of Chem. Physics**. v. 121, n 24, 2004.
- GAMBA, D., PFLUCK, A. C. D., SOARES, P. P., LIMA, G. B., PETZHOLD, C. L. Efeito da adição de um oligômero de l-ácido láctico a um poli(d,l- ácido láctico) nas propriedades mecânicas e na degradação hidrolítica de filmes e microfibras de PLA. **12.º Congresso Brasileiro de Polímeros**, Paraná, 2009.
- GARCIA, A. Q. R., PEREIRA, T. C. B., DIAS, I. L. T. Estudo das propriedades de fluxo no desenvolvimento de paracetamol pó veiculado em sachê. **Rev. Bras. Farm.** v. 93, n. 4, p. 469-475, 2012.
- GHASEMLOU, M., KHODAIYAN, F. OROMIEHIE, A., YARMAND, M. S. Development and characterisation of a new biodegradable edible film made from kefiran, an exopolysaccharide obtained from kefir grains. **Food Chemistry**, v.127, p.1496–1502. 2011.
- GIMÉNEZ, B., LACEY, A. L., SANTÍN, E. P., CABALLERO, M. E. L., MONTERO, P. Release of active compounds from agar and agaregelatin films with green tea extract. **Food Hydrocolloids**, v. 30, p. 264-271, 2013.
- GUARROTXENA, N., BRAUN, G. Ag-nanoparticle fractionation by low melting point agarose gel electrophoresis. **J Nanopart. Res.** v.14, n. 1199, 2012.
- KHANARIAN, N. T., HANEY, N. M., BURGA, R. A., LU, H. A functional agarosehydroxyapatite scaffold for osteochondral interface regeneration. **Biomaterials**, v. 33, n. 21, p. 5247–5258, 2012.
- KONDAVEETIA, S., CHEJARAA, D. R., SIDDHANTAA, A. K. Synthesis of self-assembly of agarose-fatty acid ester nanoparticles. **Indian Journal of Chemistry**. v. 53, p. 679-687, 2014.
- KUMAR, P. Classification of skin substitutes. **Burns**, v. 34, n. 1, p.148-9, 2008.
- LANDGRAF, T. N., BERLESE, A., FERNANDES, F. F., MILANEZI, M. L., MARTINEZ, R., PANUNTO-CASTELO, A. O receptor de aerobactina IutA, uma proteína isolada em coluna de agarose, não é essencial para a infecção por *Escherichia coli* uropatogênica. **Rev. Latino-Am. Enfermagem**. v. 20, n. 2, p. 4-10, 2012.
- LIMA, A. M. F., ANDREANI, L., SOLDI, V. Influência da adição de plastificante e do processo de reticulação na morfologia, absorção de água e propriedades mecânicas de filmes de alginato de sódio. **Quím. Nova**, v.30, n.4, p.832-837, 2007.
- LIMA, J. S. F., OLIVEIRA, E. A., ARAÚJO, A. C. R. A., OLIVEIRA, M. M. **Infection in children with burns: Review of literature**. **Rev Bras Queimaduras**. v. 13, n. 2, p. 67-75, 2014.

LIU, X. PENG L. V. B. YAO, G. MA, C. TANG, WU, Y. Y. HUO, P. PAN, J. SHIB, W. YANB, Y. Selective degradation of ciprofloxacin with modified NaCl/TiO₂ photocatalyst by surface molecular imprinted technology. **Colloids and Surfaces A: Physicochem. Eng. Aspects**, v. 441, p. 420–426, 2014.

MACEDO, J. L. S., SANTOS, J. B. COMPLICAÇÕES INFECCIOSAS EM PACIENTES QUEIMADOS. **Rev. Soc. Bras. Cir. Plást.**, v. 21, n. 2, p. 108-11, 2006.

MACHADO, T. R. **Elaboração e Avaliação de Filmes Biodegradáveis a base de Amido de Mandioca e Bagaço De Cevada**. 2013, 49 f. Trabalho de Conclusão de Curso Química, Universidade Estadual de Goiás, Anápolis, 2013.

MAES, N. B., MANARA, L. M., FEIJO, R., ARAUJO, E. J., SOUZA, J. A., PEREIRA, M. J. L. The use of dermal regenerate templates in burned patients in a reference children's hospital of Santa Catarina: nine years of experience. **Rev. Bras. Queimaduras**. v. 11, n. 1, p. 6-14, 2012.

MARQUES, M. D., AMARAL, V., MARCADENTI, A. Epidemiological profile of major burn inpatients admitted in a trauma's hospital. **Rev. Bras. Queimaduras**. v. 13, n. 4, p. 232-235, 2014.

MEENA, R., SIDDHANTA, A. K., PRASAD, K., RAMAVAT, B.K., ESWARAN, K., THIRUPPATHI, S., GANESAN, M., MANTRI, V. A., RAO, P.V. S. Preparation, characterization and benchmarking of agarose from *Gracilaria dura* of Indian waters. **Carbohydrate Polymers**. v. 69, p. 179–188, 2007.

MEHROTRA, S., LYNAM, D., LIU, C., SHAHRIARI, D., LEE, I., TUSZYNSKI, M. Time controlled release of arabinofuranosylcytosine (Ara-C) from agarose hydrogels using layer-by-layer assembly: An in vitro study. **J. Biomat. Sci., Polymer Edition**, 23(1–4), 439–463, 2012.

MELO, M. S., CORREIA, M. T. S. Avaliação do perfil de glicoproteínas presentes em soros de indivíduos sadios e pacientes com dengue clássica e hemorrágica e, o potencial larvicida sobre *aedes aegypti* utilizando lectinas livres e imobilizadas. **XVIII CONIC II CONIT**, Recife, 2010.

MEYAGUSKU, V. M. **Desenvolvimento e caracterização de nanopartículas lipídicas sólidas contendo Ciprofloxacino**. 99 p. Dissertação (Mestrado em Ciências Farmacêuticas). Faculdade de Ciências Farmacêuticas de Araraquara, Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho”, UNESP, 2014.

MORAES, J. O. **Propriedades de filmes de amido incorporados de nanoargilas e fibras de celulose** 2009. 88 f. Dissertação (Mestrado em Engenharia de Alimentos). Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis,

MORAIS, D. C. M., BARROS, P. O., TAMOS, E. F., ZUIM, N. R. B. Ação cicatrizante de substâncias ativas: d-pantenol, óleo de girassol, papaína, própolis e fator de crescimento de fibroblastos. **Rev. FOCO**. v. 4, n.4, p. 83-97, 2013.

MOSER, H., PEREIRA, R. R., PEREIRA, M. J. L. Evolution of silver dressings in the treatment of partial thickness Burns. **Rev. Bras. Queimaduras**. v. 12, n. 2, p. 60-67, 2013.

MOURA, M. R., AOUADA, F. A., SOUZA, J. R., MATTOSO, L. H. C. Preparação de Novos Nanobiocompósitos Comestíveis Ativos Contendo Nanoemulsão de Canela e Pectina. **Polímeros**. v. 24, n. 4, p. 486-490, 2014.

NASCIMENTO, A. L. R. **Ação Antimicrobiana do Extrato de Eugenia Uniflora L. (Pitanga) sobre *Staphylococcus Aureus*, *Pseudomonas Aeruginosa* e *Escherichia Coli***. 2013, 30 f. Trabalho de Conclusão de Curso em Farmácia, Universidade Estadual da Paraíba, Campina Grande, 2013.

NAYAK, A. K., LAHA, B., SEN, K. K. Development of hydroxyapatite-ciprofloxacin bone-implants using. **Acta. Pharm.** v. 61, n. 25–36, 2011.

NERY, J.C. **Obtenção e caracterização de filmes contendo alginato de sódio e quitosana para potencial aplicação no tratamento de lesões cutâneas**. 2014. 79 f. Dissertação (Mestrado em Engenharia de Materiais). Centro Federal de Educação Tecnológica de Minas Gerais (CEFET-MG), Belo Horizonte.

NICOLOSI, J. G., MORAES, A. M. **Biomateriais destinados à terapia de queimaduras: estudo entre o custo e o potencial de efetividade de curativos avançados**. In: VI Congresso Brasileiro de Engenharia Química em Iniciação Científica. São Paulo, Universidade de Campinas, 2005.

NIEMELÄ, T., NIIRANEN, H., KELLOMÄKI, M., TÖRMÄLÄ, P. Self-reinforced composites of bioabsorbable polymer and bioactive glass with different bioactive glass contents. Part I: Initial mechanical properties and bioactivity. **Acta Biomaterialia**. v. 1, n. 2, p.235-242, 2005.

NOIA, M. Pimentel. **Análise morfológica do reparo de queimaduras de segundo grau submetidas ao tratamento com membrana de celulose microbiana associada ao laser AlGaInPA660nm em ratos albinos wistar**. 2009. 103 f. Dissertação (Mestrado em Patologia Experimental). Centro de Pesquisas Gonçalo Moniz. Universidade Federal da Bahia, Salvador.

NOVAK, R., ZENG, Y., SHUGA, J., VENUGOPALAN, G., FLETCHER, D. A., SMITH, M. T. Single-cell multiplex gene detection and sequencing with microfluidically generated agarose emulsions. **Angewandte Chemie**. v. 123, n. 2, p. 410–415, 2011.

OGAWA, C. A., PLEPIS, A. M. G. Liberação *In Vitro* de Cloridrato de Ciprofloxacina em Compósitos Hidroxiapatita:Colágeno. **Polímeros: Ciência e Tecnologia**, v. 12, n. 2, p. 115-122, 2002.

OLIVEIRA, F. L., SERRA, M. C. V. F. Infecções em queimaduras: revisão. **Rev. Bras. Queimaduras**, v. 10, n. 3, p. 96-9, 2011.

OLIVEIRA, F. P. S., FERREIRA, E. A. P., CARMONA, S. S. Crianças e adolescentes vítimas de queimaduras: caracterização de situações de risco ao desenvolvimento. **Rev. Bras. Cresc. Des. Hum.** v. 19, n. 1, p. 19-34, 2009.

OLIVEIRA, R. N., THIRÉ, R. M., SOARES, G. D. A. Caracterização de um hidrogel nanocompósito pva-prata para uso potencial como curativo. **7.º Congresso Latino Americano de Órgãos Artificiais e Biomateriais**, Natal, 2012.

ONOFRE, N. A. **Desenvolvimento e caracterização de filmes poliméricos a partir de ágar, agarose e kefirana com incorporação de nanopartículas de prata**. 2014, 110 f. Dissertação (Mestrado em Engenharia Biomédica). Universidade Federal de Pernambuco, Recife.

OSMAN, S. A., SOUZA, F. C., DOLCI, J. E. Estudo experimental sobre a aplicação de película de celulose (bionext®) em área cruenta de ressecção de concha nasal de coelhos. **ACTA ORL / Técnicas em Otorrinolaringologia**. v. 25, p. 304-311, 2007.

PAGGIARO, A. O., MATHOR, M. B., CARVALHO, V. F., PÓLO, E., HERSON, M. R., FERREIRA, M. C., Establishing protocol glicerolação of amniotic membranes for use as a biological dressing. **Rev. Bras. Queimaduras**. v. 11, n. 3, p. 111-115, 2012.

PAILLER-MATTEI, C., PAVAN, S., VARGIOLU, R., PIROT, F., FALSON, F., ZAHOUANI, H. Contribution of stratum corneum in determining bio-tribological properties of the human skin. **Wear**. v. 263, p. 1038-1043, 2007.

PAOLI, M. A. Degradação e Estabilização de Polímeros. 2 ed. Chemkeys, 2008.

PASQUINI, D., HENRIQUE, A.; SILVÉRIO, A.H. Preparação e caracterização de nanocompósitos de matriz de Agarose reforçados com nanocristais de celulose extraídos de fibras de caroço de manga. **52.º Congresso Brasileiro de Química**, Recife, 2012.

PEREIRA, A. P. V., W. L., ORÉFICE, R. L. Novos Biomateriais: Híbridos Orgânico-Inorgânicos Bioativos. **Polímeros: Ciência e Tecnologia**. v. 23, p. 103-109, 2009.

PEREIRA, T. A. **Obtenção e caracterização de nanoemulsões O / A a base de óleo de framboesa , maracujá e pêssego : avaliação de propriedades cosméticas da formulação**. 2011, 119 f. Dissertação em Ciências Farmacêuticas – Faculdades de Ciências Farmacêuticas de Ribeirão Preto, Ribeirão Preto.

PIERMARIA, J. A., PINOTTI A., M., GARCIA, A., ABRAHAM, A. G. Films based on kefir, an exopolysaccharide obtained from kefir grain: Development and characterization. **Food Hydrocolloids**. v. 23, p. 684–690, 2009.

PRATES, R. A., SILVA, E. G., SUZUKI L. C., PAULA, C. R., RIBEIRO, M. S. Parâmetros de irradiação influenciam na inativação de leveduras tratadas com terapia fotodinâmica. **Rev. Bras. de Física Médica.** v. 4, n.1, p. 53-57, 2010

PROTO, R. S., GOZZANO, R. N., MOREIRA, S. S., GONELLA, H. A. Tratamento ambulatorial de queimaduras com prata nanocristalina em malha flexível: uma alternativa terapêutica. **ver. Bras. Queimaduras**, v. 11, n.4, p. 226-9, 2012.

QUEIROZ, A. C. C., MOTA, D. D. C. F., BACHION, M. M., FERREIRA, A. C. M. Úlceras por pressão em pacientes em cuidados paliativos domiciliares: prevalência e características. **Rev Esc Enferm USP**, v. 48, n. 2, p.64-71, 2014

RAJ, M. S., ARKIN, V. H., ADALARASU. M. A., JAGANNATH. M. Nanocomposites Based on Polymer and Hydroxyapatite for Drug Delivery Application. **Indian J Sci. Techn.**, v. 6, n. 5, p. 4653- 4658, 2013.

RAPHAEL, E. **Estudo de eletrólitos poliméricos a base de ágar para a aplicação em dispositivos eletrônicos.** 147 p. Tese (Doutor em Ciências). Instituto de Química de São Carlos, Universidade de São Paulo, São Carlos, 2010.

RECOUVREUX, D. O. S. **Desenvolvimento de Novos Biomateriais Baseados em Celulose Bacteriana para Aplicações Biomédicas e de Engenharia de Tecidos.** 2008, 145 f. Tese em Engenharia Química - Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis, 2008.

REMPEL, L. C. T., TIZZOT, M. R. P. A., VASCO, J. F. M. Incidência de infecções bacterianas em pacientes queimados sob tratamento em hospital universitário de Curitiba. **Rev. Bras. Queimaduras**, v.10, n. 1, p. 3-9, 2011.

RHIM, J. W., WANG, L. F., HONG, S. I. Preparation and characterization of ágar/silver nanoparticles composite films with antimicrobial activity. **Food Hydrocolloids.** v.33, p.327-335, 2013.

RIBEIRO, C. Cosmetologia aplicada a dermoestética. 2. Ed. 2010.

ROCHA, F. S., SAKAI, R. L., SIMÃO, T. S., CAMPOS, M. H., PINTO, D. C. S., MATTAR, C. A., ALMEIDA, P. C. C., FAIWICHOW, L. Avaliação comparativa do uso de hidroalginato com prata e o curativo convencional em queimaduras de segundo grau. **Rev. Bras. Queimaduras**, v. 11, n. 3, p. 106-10, 2012.

RODRIGUES, B. F. F. S. **Engenharia de tecidos para regeneração da pele: retrospectiva e perspectivas futuras.** 2012. 69 p. Dissertação (Mestrado em Ciências Farmacêuticas). Faculdade Ciências da Saúde, Universidade Fernando Pessoa, Porto.

RODRIGUES, L. B. Aplicações de biomateriais em ortopedia. **Estudos Tecnológicos em Engenharia**, v. 9, n. 2, p. 63-76, 2013.

SAHOO, S., CHAKRABORTI, C. K. NAIK, S., MISHRA, S. C., NANDA, U. N. Structural Analysis of Ciprofloxacin-Carbopol Polymeric Composites by X-Ray

Diffraction and Fourier Transform Infra-Red Spectroscopy. **Trop. J. Pharm. Res.** v. 10, n. 3, p. 273-278, 2011.

SAHOO, S., CHAKRABORTI, C. K., BEHERA, P. K. FTIR and Raman spectroscopic investigations of a controlled release ciprofloxacin / carbopol940 mucoadhesive suspension. **Asian Journal of Pharmaceutical and Clinical Research.** v. 5, n. 1, 2012.

SALCEDO, S. S. NIETO, A. VALLET-REGI. M. Fosfato Hydroxyapatite / β -tricálcio / andaimes agarose macroporosasp para engenharia de tecido ósseo. **Chemical Engineering Journal.** v. 137, n. 1, p. 62-71, 2008.

SANCHES, E. A. **Estudo de XRD e SAXS aplicados à polianilina e a poli (Ó-metoxianilina)** 2011. 148 p. Tese (Doutorado em Ciências e Engenharia dos Materiais). Instituto de Física, Química e Engenharia de São Carlos, Universidade de São Paulo, São Carlos.

SHAMSURI, A. A., DAIK, R. Utilization of an Ionic Liquid/Urea Mixture as a Physical Coupling Agent for Agarose/Talc Composite Films. **Materials.** v. 6, p. 682-698, 2013.

SHIRANE, H. Y., ODA, D. Y., PINHEIRO, T. C., CUNHA, M. R. Implantes de Biomateriais em falha óssea produzida na fíbula de rato. **Rev. Bras. Ortop.** v. 45, n. 5, p. 478-82, 2010.

SILVA, C. R. MANIERO, M. G. PERES, M. S. GUIMARÃES, J. R. OCORRÊNCIA E DEGRADAÇÃO DE QUINOLONAS POR PROCESSOS OXIDATIVOS AVANÇADOS. **Quim. Nova,** v. 37, n. 5, p. 868-885, 2014.

SILVA, M. C. C., PACHECO, J. S., FURTADO, F. V. S., MATOS FILHO, J.C., DAMASCENO, A. K. C. Epidemiologia das infecções em queimaduras no nordeste do Brasil. **Rev. Eletr. Enf.** v.11, n. 2, p.3904, 2009.

SILVA, M. F. MORAES, M. A., NOGUEIRA, G. M., RODAS, A. C.D. HIGA, O. Z., BEPPU, M. M. Glycerin and Ethanol as Additives on Silk Fibroin Films: Insoluble and Malleable Films. **Inc. J. Appl. Poly. Sci.** v. 128, p. 115–122, 2013.

SKOULIKA, S. G., GEORGIU, C. A. Rapid Quantitative Determination of Ciprofloxacin in Pharmaceuticals by Use of Solid-State FT-Raman Spectroscopy. **APPLIED SPECTROSCOPY.** v. 55, n. 09, 2011.

SOMBIÉ, B. C., YAMEOGO, J. G., SEMDÉ, R., HENSCHER, V., AMIGHI, K., EJONATHAN GOOLE, E. Ciprofloxacin mono-oleína géis aquosos como implantes para o tratamento de osteomielite crónica: *in vitro* caracterização. **J Adv. Pharm. Technol. Res.** v. 5, n. 4, p. 158-163, 2014.

SOUSA, A. M. M. **Aplicação de biopolímeros extraídos de algas na produção de embalagens biodegradáveis.** 113 f. Dissertação em Engenharia Química – Universidade do Porto, Porto, 2008.

SOUZA, L. G. V., CARVALHO, C. W. P., MARCONCINI, J. M., ASCHERI, J. L. R. Propriedades mecânicas de filmes biodegradáveis de amido de mandioca adicionados de nanofibrilas de algodão. **10.º Congresso Brasileiro de Polímeros**, Foz do Iguaçu, 2009.

SOUZA, M. V. N., ALMEIDA, M. V., SILVA, A. D., COURI, M. R. C. Ciprofloxacina, an important fluoroquinolone against anthrax. **Rev. Bras. Farm.** v. 85, n. 1, p. 13-18, 2004

SU, Y., CHU, B., GAO, Y., WU, C., ZHANG, L., CHEN, P., WANG, X., TANG, S. Modification of agarose with carboxylation and grafting dopamine for promotion of its cell-adhesiveness. **Carbohydrate Polymers**, v. 92 p. 2245– 2251, 2013.

TAVARES, C. S., HORA, E. C. Caracterização das vítimas de queimaduras em seguimento ambulatorial. **Rev. Bras. Queimaduras**, v. 10, n. 4, p. 119-23, 2011.

UNNITHANA, A. R., BARAKATB, N. A. M., PICHIAHD, P. B. T., GNANASEKARANE, G., NIRMALAB, R., CHAD, Y. S., JUNGE, C. H., NEWEHYF, M. E., KIMB, H. Y. Wound-dressing materials with antibacterial activity from electrospun polyurethane–dextran nanofiber mats containing ciprofloxacin HCl. **Carbohydrate Polymers**. v. 90, p. 1786–1793, 2012.

VAQUERO, V. S., SATRIANO, C., SÁNCHEZ, N. T., MÉNDEZ, L. G., RUIZ, J. P. G., MANSO, M. S. Characterization and cytocompatibility of hybrid aminosilane-agarose hydrogel scaffolds. **Science & Technology of Materials, Interfaces, and Processing**. v. 5, n. 23, 2010.

VASCONCELOS, O. M. S. R. **Degradação da Ciprofloxacina em efluente de indústria farmacêutica**. 2011. Dissertação (Mestrado em Saneamento, Meio Ambiente e Recursos Hídricos). Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte,

VASQUES, C. T. **Preparação e caracterização de filmes poliméricos a base de amido de milho e polipirrol para aplicação como biomaterial**. 2007, 140 f. Tese em Química – Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis, 2007.

VIERA, S. P. P. **Promoção da Absorção Cutânea de Fármacos: Estado da Arte**. 2013, 72 p. Dissertação de mestrado em Ciências Farmacêuticas - Universidade Fernando Pessoa, Porto, Portugal, 2013.

VILLANOVA, J. C. O., ORÉFICE, R. L., CUNHA, A. S. Aplicações Farmacêuticas de Polímeros. **Polímeros: Ciência e Tecnologia**, v. 20, n. 1, p. 51-64, 2010.

VINEREAN, H. V., GAZDA, L. S., HALL, R. D., SMITH, B. H. Streptozotocin is responsible for the induction and progression of renal tumorigenesis in diabetic Wistar–Furth rats treated with insulin or transplanted with agarose encapsulated porcine islets. **Islets**, v. 3, n. 4, p. 196–203, 2011.

WUNDERLICH, B. L., MARCOLLA, B., SOUZA, J. A., ARAUJO, E. J., FEIJÓ, R., PEREIRA, M. J. L. Curativo com pressão negativa e matriz de regeneração dérmica: uma nova opção de tratamento para feridas extensas. **Rev. Bras. Queimaduras**, v. 10, n. 3, p. 78-84, 2011.

YÁÑEZ, C. R., ROSSEL, C. V. P., TREVIÑO, G. C., SEPÚLVEDA, J., ALARCÓN, R. Filme de quitosã composto, nova alternativa como substituto temporário de pele. *Sociedade Brasileira para o Progresso da Ciência (SBPC)*, Rio Branco, 2014.

ZHANG, C. L., GUO, X. L., WANG, Y. Biodegradation of ciprofloxacin in soil. *Journal of Molecular Liquids*. v. 173, p. 184-186, 2012.

ZHANG, L. M., WU, C. X., HUANG, J. Y., PENG, X. H., CHEN, P., TANG, S. Q. Synthesis and characterization of a degradable composite agarose/HA hydrogel. *Carbohydrate Polymers*. v. 88, p. 1445– 1452, 2012.

**APÊNDICE A – TRABALHO APRESENTADO NO XIV SIMPOSIO LATINO
AMERICANO DE POLÍMEROS (SLAP) E XII CONGRESSO IBERO
AMERICANO DE POLÍMEROS (CIP)**

Elaboração de Filmes Poliméricos Baseados em Agarose com Incorporação de Ciprofloxacina para a utilização como novos substitutos temporários de pele

Gilvânia M. Santana^{1}, Natalia A. Onofre¹, Carlos A. S. Silva¹, Danielle C A S Santana⁴
Cláudia S. Lima², Lêda C. Silva³, Ricardo Yara¹*

1: Departamento de Engenharia Biomédica, Universidade Federal de Pernambuco - UFPE, Recife, Brasil

2: Departamento de Biofísica e Radiobiologia, Universidade Federal de Pernambuco - UFPE, Recife, Brasil

3: Campus Mata Norte, Universidade de Pernambuco - UPE, Nazaré da Mata, Brasil

4: Departamento de Farmácia, Universidade Federal de Pernambuco - UFPE, Recife, Brasil

***e-mail: gilvaniamarinete@gmail.com**

Resumo

A pele é o maior órgão do corpo humano possuindo diversas funções importantes. Havendo lesão na pele o seu tratamento deve ser rápido e eficaz, a fim de se evitar possíveis infecções que possam causar danos maiores. Substitutos temporários de pele são dispositivos utilizados com a finalidade de auxiliar na regeneração da pele, prevenindo a perda de líquidos e eletrólitos e o aparecimento de infecções. Este trabalho teve por objetivo a elaboração de filmes poliméricos com a incorporação da Ciprofloxacina, para contribuir com o arsenal terapêutico existente. Os filmes foram caracterizados por espectrometria no Ultravioleta/Visível (UV/VIS) e Infravermelho com transformada de Fourier (FT-IR) que demonstraram a incorporação uniforme do antibiótico aos filmes. Ensaios físicos demonstraram que os filmes apresentaram aderência e transparência. Observou-se ainda uma tensão de ruptura de 18,1 mPa nos filmes sem antibiótico e 24,1 mPa para os filmes contendo Ciprofloxacina.

Palavras-chave: Agarose, Ciprofloxacina, Queimaduras, Substitutos Temporário de Pele

1 INTRODUÇÃO

A pele é considerado o maior órgão do corpo humano, estabelecendo uma interface ativa que se interpõe entre o organismo e o ambiente, constituindo cerca de 16% do peso corporal. É responsável por diversas funções, entre estas, as de defesa e regulação do corpo, barreira natural, sendo responsável ainda pela absorção da radiação ultravioleta (UV) e síntese de vitamina D; controle da temperatura e estabilização da pressão sanguínea. No aspecto sensorial, equilibra as sensações de frio, calor, dor; permite a identificação dos indivíduos por suas características peculiares¹.

Havendo dano ou destruição da pele, faz-se necessário uma rápida intervenção, na tentativa de se evitar perda de viabilidade e funcionalidade

do tecido, assim como o aparecimento de desequilíbrio fisiológico, que pode levar a morte do indivíduo. Uma das principais causas de perda de integridade cutânea são as queimaduras, de acordo com a Sociedade Brasileira de Queimaduras, no Brasil acontecem cerca de um milhão de casos por ano².

Diante do exposto observa-se a necessidade de se desenvolver novas tecnologias para o tratamento de pacientes com queimaduras, sobretudo para a criação de curativos interativos, devido a alguns fatores associados aos curativos convencionais existentes, pois esses necessitam de diversas trocas o que vem ocasionando mal estar aos pacientes³. Neste contexto a agarose, polímero natural extraído de algas vermelhas⁴, vem despontando como uma boa alternativa para a produção de

filmes para a elaboração de substitutos temporários de pele.

Uma característica desejada em um substituto temporário de pele é que este possua ação antimicrobiana. Este atributo pode ser alcançado através da incorporação de um agente antimicrobiano ao Biopolímero. A Ciprofloxacina é um antibiótico da família das Fluorquinolonas que possui efeito em bactérias Gram-positivas e Gram-negativas⁵.

Este trabalho teve por objetivo a produção de filmes poliméricos baseados em agarose com a incorporação de Ciprofloxacina, visando obter um curativo interativo ou mesmo um novo substituto temporário de pele, eficaz e de baixa toxicidade, a fim de contribuir para o arsenal terapêutico no tratamento de queimaduras na pele e desta maneira, melhorar a eficiência na cicatrização e regeneração tecidual.

2 MATERIAIS E MÉTODO

2.1 Preparo dos filmes

Os filmes de agarose foram preparados pelo sistema de “casting”, utilizando-se 0,1 g de agarose e 100 µL de solução de glicerol. Alternativamente foi adicionado 0,0022 g de Ciprofloxacina. O tratamento utilizando-se apenas filmes de agarose e glicerol foi denominado tratamento 01 (T1) e àquele onde os filmes foram acrescidos de ciprofloxacina foi denominado tratamento 02 (T2)

2.2 Espessura

A espessura dos filmes foi obtida com auxílio de um paquímetro digital 6”(Zaas precision), de precisão 0,01mm. Foram realizadas medidas de cada tratamento, em duplicata, tomando-se medida de 5 pontos diferentes de cada amostra, totalizando 10 medidas para cada tratamento. Os

resultados foram expressos através da média das medidas de cada tratamento.

2.3 Resistência à tração

Os testes de resistência à tração foram realizados no Laboratório de Engenharia Biomédica da Universidade Federal de Pernambuco (UFPE). A resistência à tração foi determinada utilizando uma Máquina Universal de Ensaio (WDW 300E), acoplada ao software WinWdW.

2.4 Transparência

Para determinação da transparência dos filmes foram relacionadas as medidas de absorvâncias a 600 nm pela análise no UV-visível modelo UV 1800 UV Espectrofotômetro (SHIMADZU – Japão), oacoplado ao Software UV Probe, com a sua espessura dos filmes de acordo com a equação abaixo:

$$T = \frac{-\log A_{600}}{x} \quad \text{Equação 1}$$

Na equação 1:

T = Transparência

A₆₀₀ = Absorvância em 600 nm

x = Espessura do filme em mm

2.5 Teor de umidade

O teor de umidade dos filmes foi avaliado através da medida de perda de peso. Para isso, amostras de cada filme, em triplicata, foram pesadas em balança analítica (Shimadzu AUY 220) e em seguida aquecidas em estufa de secagem (Nova Técnica NT513) a 105 ± 1 °C. As amostras foram transferidas para um dessecador até atingir a temperatura ambiente, e posteriormente foram novamente pesadas. A umidade contida nas amostras foi relacionada à perda de peso, de acordo com a equação 2.

$$U\% = \frac{M_i - M_f}{M_i} \times 100 \quad \text{Equação 2}$$

Onde:

U% = porcentagem de umidade

Mi = Massa inicial

Mf = Massa final

2.6 Higroscopicidade

Para a análise da capacidade de absorção de água ao longo do tempo em temperatura ambiente, foi determinado pelo aumento de peso dos filmes e de sua espessura utilizando-se uma balança analítica e um paquímetro de precisão após 144 h.

2.7 Espectroscopia UV-VIS

A análise de absorção eletrônica na região do UV/VIS foi avaliada através de curvas analíticas da Absorbância versus Concentração de Ciprofloxacina. O equipamento utilizado foi o espectrofotômetro de absorção UV/VIS modelo UV 1800 UV (SHIMADZU – Japão), operado pelo Software UV Probe.

2.8 Infravermelho com Transformada de Fourier (FT-IR)

As análises na região do Infravermelho (FT-IR) foram realizadas na Central Analítica do Departamento de Química Fundamental (UFPE). O equipamento utilizado foi o Spectrum 400 FT-IR/FT-NIR Spectrometer. As análises foram realizadas por reflectância.

2.9 Liberação da CIPROFLOXACINA

As amostras permaneceram em água destilada em estufa a 37 °C por 4 dias. Após esse tempo, o meio foi analisado por espectroscopia no UV-VIS, na faixa de 190 a 400 nm, para avaliar a liberação da Ciprofloxacina para o fluido.

3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

3.1 Desenvolvimento dos filmes poliméricos

A partir da metodologia desenvolvida foram produzidos filmes poliméricos de agarose (T 1) e filmes poliméricos incorporados com a Ciprofloxacina, que apresentaram flexibilidade, aderência, transparência e permeabilidade a gases do ambiente, para uma espessura média de 0,08 mm. Além disso os filmes se mostraram sem rachaduras e homogêneos (figura 1).



Figura 43. Filme de agarose.

Os testes de espessura, teor de umidade e transparência estão ilustrados na tabela abaixo:

Tabela 12. Testes físico-químicos.

| Teste | T 1 | T 2 |
|---------------------|------|------|
| Espessura (mm) | 0,08 | 0,07 |
| Teor de umidade (%) | 26,2 | 25 |
| Transparência | 14 | 11 |

Os testes realizados em T1 e T 2 não demonstraram diferença significativa.

3.2 Resistência à tração

Os testes de resistência à tração foram realizados de acordo com as normas ASTM D882, que segue a padronização do teste de tração de plásticos finos. A tabela 2 mostra a média dos resultados obtidos:

Tabela 13 Testes mecânicos

| Tratamentos | Tensão na ruptura | Alongamento na ruptura |
|-------------|-------------------|------------------------|
| T 1 | 17,32 MPa | 21,52 % |
| T 2 | 32,99 MPa | 13,80 % |

3.3 Higroscopicidade

A partir dos dados obtidos com o teste de estabilidade foi possível verificar que os filmes apresentam cerca de 10% de aumento de peso no decorrer do tempo do teste. Acredita-se que esse aumento ocorra pela absorção da umidade do ambiente pelos filmes.

3.4 Espectroscopia UV-VIS

Para a análise espectrofotométrica dos filmes incorporados com a Ciprofloxacina, diluiu-se 0,0100 g do filme em 5 mL de água destilada, e em seguida foi obtido o espectro, que apresentou o máximo de absorvância em 275 nm, (Figura 2) característico da Ciprofloxacina. Este máximo não foi observado na análise dos filmes não incorporados. Estes resultados corroboram àqueles obtidos por Cazedey e Salgado (2012)⁶.

Foi possível também observar a homogeneidade da Ciprofloxacina incorporada no filme, através dos espectros obtidos a partir da análise de diferentes regiões do mesmo filme, (Figura 3).

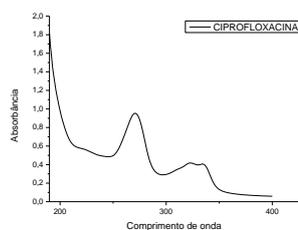


Figura 44. Espectro da CIPRO incorporada ao filme (T 1)

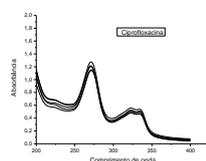


Figura 45. Espectro da CIPRO para diferentes regiões do filme

3.5 Infravermelho com transformada de Fourier (FT-IR)

As análises de FT-IR (Figura 4 e 5) demonstraram a existência de bandas em 3.265 cm^{-1} referentes a vibrações de deformação axial de C-H e OH,

presentes em todas as análises realizadas. É possível observar ainda a presença de bandas em 1.332 cm^{-1} , referentes à deformação angular de C-H. Pode-se observar as bandas em 1419 cm^{-1} referente ao ciclo-alcanos presentes na estrutura da Ciprofloxacina o que nos revela a incorporação do fármaco no filme.

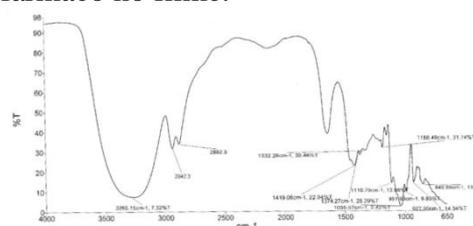


Figura 46 Filme incorporado com Ciprofloxacina

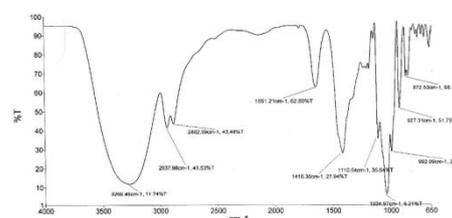


Figura 47 Filme sem incorporação da Ciprofloxacina

3.6 Liberação da Ciprofloxacina

Os filmes permaneceram em água por quatro dias, tempo médio de uso de hidrogéis como curativos, de forma a detectar possível liberação de Ciprofloxacina para o meio (Figura 6). As análises foram feitas em duplicata e observou-se a presença do pico em 275 nm característico da Ciprofloxacina após quatro dias, o que não foi observado na amostra que não foi incorporada com a Ciprofloxacina.

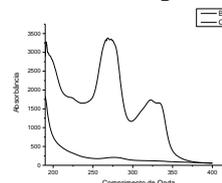


Figura 48 Espectro da liberação da Ciprofloxacina em relação ao tempo (T1 e T2) após quatro dias de imersão em água

4 CONCLUSÕES

A partir da metodologia desenvolvida foi possível a obter um filme polimérico baseado em agarose, o qual foi

incorporado com Ciprofloxacina, que apresentou boa aderência e flexibilidade, além de transparência e de boas características mecânicas. Pode-se observar que este antibiótico foi uniformemente distribuído nos filmes produzidos e que, adicionalmente, elevou a resistência de ruptura de 18 mPa para 32,4 mPA.

5 AGRADECIMENTOS

Agradecemos à Central Analítica do Departamento de Química Fundamental (UFPE) pelas análises de FT-IR, a Farmácia Escola Carlos Drummond de Andrade do Departamento de Farmácia (UFPE) por ceder a Ciprofloxacina, e a Fundação de Amparo à Ciência e Tecnologia de Pernambuco (FACEPE) pelas bolsas de estudo.

6 REFERÊNCIAS

- ¹PEREIRA, T. A. Obtenção e caracterização de nanoemulsões O/A a base de óleo de framboesa, maracujá e pêssego: avaliação de propriedades cosméticas da formulação. Mestrado, Universidade de São Paulo, Ribeirão Preto, Brasil, 2011.
- ²RODRIGUES, B. F. F. S. Engenharia de tecidos para regeneração da pele: retrospectiva e perspectivas futuras. Mestrado, Universidade Fernando Pessoa, Porto, Brasil, 2012.
- ³GONÇALVES, C. M. Substitutos Sintéticos da Pele. In: GOMES, D. R., SERRA, M. C., PELLON, M. A. **Queimaduras**. Livraria e Editora REVINTER Ltda. Disponível em: <<http://www.bibliomed.com.br/book>>. Acesso em: 9 mai. 2013.
- ⁴CHENA, B., HANB, J., WANGA, Y., SHENG A, C., LIU A, Y., ZHANGA, G., YAN, Y. Separation, enrichment and determination of ciprofloxacin using thermoseparating polymer aqueous two-phase system combined with high performance liquid chromatography in milk, egg, and shrimp samples, *Food Chem.*, **148** (2014) 105-11.
- ⁵CANDIAN, L. M. Estudo do Polietileno de alta densidade reciclado para uso em elementos estruturais. Dissertação (Mestrado em Engenharia de Estruturas) Escola de Engenharia de São Carlos, Universidade de São Paulo, São Carlos, 2007.
- ⁶CAZEDEY, E. C. L. SALGADO, H. R. N., Spectrophotometric Determination of Ciprofloxacin Hydrochloride in Ophthalmic Solution, *Adv. in Anal. Chem.* **2** (2012), 74-79

