

**UNIVERSIDADE FEDERAL DE CAMPINA GRANDE  
CENTRO DE CIÊNCIAS E TECNOLOGIA  
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIA  
E ENGENHARIA DE MATERIAIS**

**Clarissa Queiroz Bezerra de Araújo Fernandes**

**DESENVOLVIMENTO DE ANEL INTRAVAGINAL: QUITOSANA/PROMESTRIENO**

Campina Grande - PB

2019

**Clarissa Queiroz Bezerra de Araújo Fernandes**

**DESENVOLVIMENTO DE ANEL INTRAVAGINAL: QUITOSANA/PROMESTRIENO**

Tese apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciência e Engenharia de Materiais como requisito parcial à obtenção do título de **Doutora em Ciência e Engenharia de Materiais.**

**Orientador:** Prof. Dr. Marcus Vinícius Lia Fook

Campina Grande - PB

2019

F363d Fernandes, Clarissa Queiroz Bezerra de Araújo.  
Desenvolvimento de anel intravaginal: quitosana/promestrieno /  
Clarissa Queiroz Bezerra de Araújo Fernandes. – Campina Grande, 2019.  
80 f.: il. color.

Tese (Doutorado em Ciência e Engenharia de Materiais) –  
Universidade Federal de Campina Grande, Centro de Ciências e  
Tecnologia, 2019.

"Orientação: Prof. Dr. Marcus Vinicius Lia Fook".

Referências.

1. Biomateriais. 2. Distúrbios do Assoalho Pélvico. 3. Estrogênio.  
4. Climatério. I Fook, Marcus Vinicius Lia. II Título.

CDU 620.1(043)

## VITAE DO CANDIDATO

Clarissa Queiroz Bezerra de Araújo Fernandes

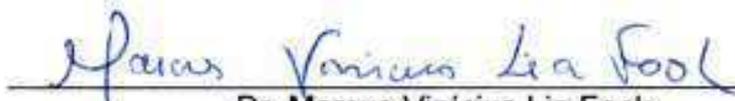
- Formada em Medicina pela Faculdade de Ciências Médicas de Campina Grande (FCM) em Novembro de 2011;
- Residência Médica em Ginecologia e Obstetrícia no Hospital Universitário Lauro Wanderley (HULW) pela Universidade Federal da Paraíba (UFPB) em Março de 2015;
- Residência Médica em Endoscopia Ginecológica no Hospital Universitário Lauro Wanderley (HULW) pela Universidade Federal da Paraíba (UFPB) em Março de 2016;
- Mestre em Ciência e Engenharia de Materiais pela Universidade Federal de Campina Grande em 2017;
- Título de Especialista em Ginecologia e Obstetrícia (TEGO 0078/2015) pela Associação Médica Brasileira (AMB) e pela Federação Brasileira de Ginecologia e Obstetrícia (FEBRASGO) em Agosto de 2015;
- Título de Especialista em Endoscopia Ginecológica pela Associação Médica Brasileira (AMB) e pela Federação Brasileira de Ginecologia e Obstetrícia (FEBRASGO) em Dezembro 2015;
- Médico Ginecologista e Obstetra concursada do Hospital Universitário Lauro Wanderley (HULW) na Universidade Federal da Paraíba (UFPB) desde Agosto de 2015, pela Empresa Brasileira de Serviços Hospitalares (EBSERH);
- Professora Concursada do Magistério Superior, Classe A - Auxiliar I, da Disciplina de Ginecologia da Universidade Federal de Campina Grande (UFCG) no Hospital Universitário Alcides Carneiro (HUAC);
- Coordenadora do Estágio Curricular do Internato de Ginecologia do Curso de Medicina da Universidade Federal de Campina Grande (UFCG) no Hospital Universitário Alcides Carneiro (HUAC).

**CLARISSA QUEIROZ BEZERRA DE ARAÚJO FERNANDES**

**DESENVOLVIMENTO DE ANEL INTRAVAGINAL: QUITOSANA/ PROMESTRIENO**

Tese apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciência e Engenharia de Materiais como requisito parcial à obtenção do título de **Doutor em Ciência e Engenharia de Materiais**.

Aprovado em: 08/11/2019

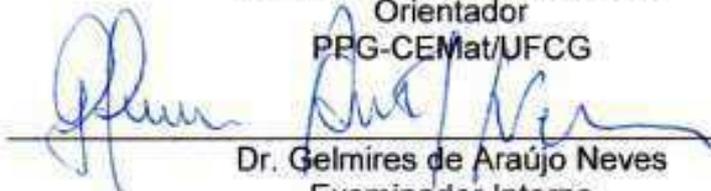


---

Dr. Marcus Vinícius Lia Fook

Orientador

PPG-CEMat/UFCG



---

Dr. Gelmires de Araújo Neves

Examinador Interno

PPG-CEMat/UAEMa/UFCG



---

Dr.ª Suédina Maria de Lima Silva

Examinadora Interna

PPG-CEMat/UAEMa/UFCG

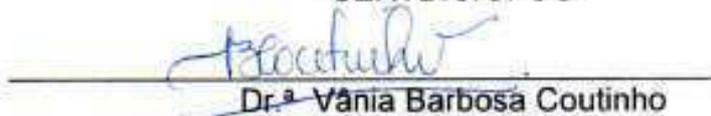


---

Dr. Solomon Kweku Sagoe Amoah

Examinador Externo

CERTBIO/UFCG



---

Dr.ª Vânia Barbosa Coutinho

Examinadora Externa

COESP

À minha Mãe, ao meu esposo Porfirio e à todos que fazem parte do CERTBIO, por contribuírem para que eu alcançasse esse objetivo, por compreenderem os momentos de ausências e por estarem sempre ao meu lado nessa conquista, o meu agradecimento e minha sincera gratidão, DEDICO.

## **AGRADECIMENTOS**

Ao meu esposo, Porfírio Fernandes de Medeiros Junior, pela paciência e compreensão durante a construção deste trabalho, e por acreditar na minha evolução acadêmica e ser fonte de inspiração nesta jornada.

À minha família, em especial à minha mãe, Maria Sônia Queiroz Bezerra de Araújo, meu exemplo de força, determinação e incentivo diário nos meus projetos de vida.

Aos queridos professores do CERTBIO e em especial á Wladymyr Jefferson Bacalhau de Sousa e André Gonçalves Bezerra Júnior, por compreenderem minhas ausências e por permanecerem ao meu lado traçando o melhor caminho a ser seguido.

Ao meu orientador Prof. Dr. Marcus Vinícius Lia Fook, pela confiança depositada em mim, bem como, pelos ensinamentos e partilha de conhecimentos para a vida e por compreender minhas ausências e solicitações de última hora.

Aos meus colegas de doutorado, funcionários, professores, alunos, mestrandos e doutorandos do CERTBIO, pela ajuda compartilhada a cada momento. Sem vocês seria impossível. Assim como, a todos os demais que fizeram parte desta realização, direta ou indiretamente, meu sincero agradecimento!

*“A felicidade e a saúde são incompatíveis  
com a ociosidade”*

*Aristóteles*

## RESUMO

O presente trabalho teve como objetivo o desenvolvimento e caracterização de anéis biodegradáveis de quitosana/promestrieno. Os anéis foram produzidos utilizando, a técnica de tecelagem com fios multifilamentares (3 fios torcidos). Os fios com/sem fármaco foram obtidos por meio de extrusão e imersão em solução coagulante, seguido da lavagem e secagem dos fios, para posterior tecelagem do anel. Após obtenção dos anéis os mesmos foram caracterizados por meio das técnicas de Biodegradação, Microscopia Óptica (MO), Espectroscopia na Região do Infravermelho por Transformada de Fourier (FTIR), Condutividade, Avaliação do Potencial Hidrogeniônico, Grau de Intumescimento, Resistência à Tração e Termogravimetria. Na Biodegradação as amostras submetidas ao ensaio em meio ácido demonstraram maior perda de massa em função do tempo, em contraste as amostras submetidas ao ensaio em PBS e PBS com lisozima. Nas análises de MO as amostras apresentaram-se densas, lisas e sem a presença de poros, porém após 21 dias de ensaio de biodegradação observaram-se mudanças na coloração das amostras. O FTIR evidenciou as vibrações características dos materiais e confirmou a incorporação do fármaco na matriz polimérica de quitosana. Nos resultados de condutividade e pH ao longo de 21 dias de ensaio de biodegradação, observou-se etapas distintas que revelaram o processo de degradação da matriz e liberação do fármaco. No ensaio de resistência a tração, o uso da técnica de tecelagem e a adição de fármaco na matriz possibilitaram melhorias nas propriedades mecânicas dos anéis. Na Termogravimetria a perda de massa nos anéis com e sem fármaco até 200°C está atrelada a evaporação da água nas amostras. De modo geral, os anéis apresentam potencialidade como terapêutica de reposição de estrogênio, no entanto, é necessária a realização de outros ensaios que confirmem o uso do dispositivo na liberação controlada de promestrieno.

**Palavras – Chaves:** Biomateriais. Distúrbios do Asoalho Pélvico. Estrogênio. Climatério.

## ABSTRACT

The present work aimed at the development and characterization of rings biodegradable of chitosan/promestrieno. The rings were produced using the weaving technique with multifilament wires (3 twisted wires). The threads with/without drugs were obtained by extrusion and immersion in coagulant solution, followed by washing and drying of the threads, for subsequent ring weaving. After obtaining the rings, they were characterized by the techniques of Biodegradation, Optical Microscopy (MO), Fourier Transform Infrared Spectroscopy (FTIR), Conductivity, Hydrogen Potential Assessment, Degree of Swelling, Tensile Strength and Thermogravimetry. In Biodegradation, the samples submitted to the acid test showed a greater mass loss as a function of time, in contrast to the samples submitted to biodegradation in the solution of PBS, and PBS with lysozyme. In the analyzes of MO the samples were dense, smooth and without the presence of pores, but after 21 days of biodegradation test. The FTIR showed the characteristic vibrations of the materials and confirmed the incorporation of the drug in the chitosan polymer matrix. In the conductivity and pH results over 21 days of biodegradation assay, distinct steps were observed that revealed the process of matrix degradation and drug release. In the tensile strength test, the use of the weaving technique and the addition of drug in the matrix allowed improvements in the mechanical properties of the rings. In thermogravimetry, the mass loss in the rings with/without drug up to 200 ° C is linked to the evaporation of water in the samples. In general, the rings have potential as estrogen replacement therapy; however, further tests are needed to confirm the use of the device in the controlled release of promestrieno.

**Keywords:** Biomaterials. Pelvic Floor Disorders. Estrogen. Climacteric.

## LISTA DE FIGURAS

Figura 1 – Músculos do Diafragma Pélvico e Urogenital .....	18
Figura 2 – Anatomia Vaginal .....	19
Figura 3 – Desenho esquemático da histologia vaginal. ....	20
Figura 4 – Estrutura química do promestrieno (estradiol 3-propil 17 $\beta$ -metil dieter) .	27
Figura 5 – Estrutura química da quitina e quitosana .....	30
Figura 6 – Modelo esquemático de liberação controlada de fármacos .....	32
Figura 7 – Fluxograma simplificado da elaboração dos fios de quitosana e quitosana/fármaco.....	39
Figura 8 - Modelo do tear. ....	40
Figura 9 – Fluxograma simplificado da elaboração dos anéis de quitosana e quitosana/fármaco.....	40
Figura 10 – Aspectos morfológicos das amostras submetidas ao ensaio de biodegradação durante 21 dias. ....	45
Figura 11 - Percentual de perda mássica das amostras AQ. ....	46
Figura 12 - Percentual de perda mássica das amostras AQF. ....	48
Figura 13 - Imagens de Microscopia Óptica da amostra AQ com magnificação de 200X.....	49
Figura 14 - Imagens de Microscopia Óptica da amostra AQF com magnificação de 200X.....	51
Figura 15 – FTIR do Promestrieno. ....	52
Figura 16 – FTIR da amostra AQ e AQF. ....	53
Figura 17 – FTIR da amostra AQ submetida ao ensaio de biodegradação em PBS.	54
Figura 18 – FTIR da amostra AQ submetida ao ensaio de biodegradação em PBS com lisozima.....	55
Figura 19 – FTIR da amostra AQ submetida ao ensaio de biodegradação em Ácido Lático por 7 dias. ....	56
Figura 20 – FTIR da amostra AQF submetida ao ensaio de biodegradação em PBS. ....	57
Figura 21 – FTIR da amostra AQF submetida ao ensaio de biodegradação em PBS com lisozima por 21 dias.....	58
Figura 22 – FTIR da amostra AQF submetida ao ensaio de biodegradação em Ácido Lático por 21 dias. ....	59

Figura 23 - Condutividade das amostras AQ.....	60
Figura 24 - Condutividade das amostras AQF. ....	61
Figura 25 - Potencial Hidrogeniônico das amostras AQ.....	62
Figura 26 - Potencial Hidrogeniônico das amostras AQF.....	63
Figura 27 - Grau de intumescimento das amostras.....	64
Figura 27 - Termogramas das amostras AQ e AQF.....	66

## LISTA DE TABELAS

Tabela 1 – Características de um sistema ideal de liberação intravaginal .....	33
Tabela 2 – Materiais e Reagentes utilizados na pesquisa .....	38
Tabela 3 – Codificação preliminar das amostras.....	41
Tabela 4 – Resistência à tração dos anéis.....	65

## LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

CERTBIO - Laboratório de Avaliação e Desenvolvimento de Biomateriais do Nordeste

DIU - Dispositivos Intra-Uterinos

DRX - Difração de Raios X

E1 - Estroma

E2 - 17 Beta-estradiol

E3 - Estriol

EDS - Espectroscopia por Energia Dispersiva de Raios X

EE – Etilnil estradiol

EVA – Poli[(etileno)-co-(acetato de vinila)]

FTIR - Espectroscopia na Região de Infravermelho com Transformada de Fourier

GD – Grau de desacetilação

GI - Grau de Intumescimento

ISO - *International Organization for Standardization*

LH – Hormônio luteinizante

MEV - Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV)

Mf - Peso Final

Mi - Peso Inicial

PBS - *Phosphate Buffered Saline*

PIA - Pressão Intra-Abdominal

TRH - Terapia de Reposição Hormonal

UFCG - Universidade Federal de Campina Grande

## SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO .....	15
2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA .....	17
2.1 Anatomia pélvica feminina .....	17
2.1.1 Órgãos da cavidade pélvica .....	18
2.2 Hormônios sexuais femininos .....	21
2.3 Climatério .....	22
2.4 Terapia Hormonal .....	25
2.4.1 Promestrieno .....	26
2.5 Biomateriais .....	28
2.5.1 Quitosana .....	29
2.6 Liberação Controlada de Fármacos .....	30
2.6.1 Anéis Poliméricos para liberação intravaginal .....	33
2.7 Tecelagem .....	34
2.8 Pesquisas Clínicas .....	35
3 MATERIAIS E MÉTODOS .....	38
3.1 Local da Pesquisa .....	38
3.2 Materiais e reagentes .....	38
3.3 Métodos .....	38
3.3.1 Preparação dos fios de quitosana e quitosana/fármaco .....	38
3.3.2 Desenvolvimento do tear .....	40
3.3.3 Obtenção dos anéis de quitosana e quitosana/fármaco .....	40
3.4 Caracterizações .....	41
3.4.1 Biodegradação .....	41
3.4.2 Microscopia Óptica (MO) .....	42
3.4.3 Espectroscopia na Região do Infravermelho por Transformada de Fourier (FTIR) .....	42
3.4.4 Condutividade .....	43
3.4.5 Avaliação do Potencial Hidrogeniônico (pH) .....	43
3.4.6 Grau de Intumescimento .....	43
3.4.7 Resistência à Tração .....	44
3.4.8 Termogravimetria (TGA) .....	44

4 RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	45
4.1 Biodegradação.....	45
4.2 Microscopia Óptica (MO) .....	48
4.3 Espectroscopia na Região do Infravermelho por Transformada de Fourier (FTIR).....	52
4.4 Condutividade .....	59
4.5 Avaliação do Potencial Hidrogeniônico (pH) .....	62
4.6 Grau de Intumescimento.....	63
4.7 Resistência à Tração .....	65
4.8 Termogravimetria (TGA) .....	66
5 CONCLUSÃO.....	68
6 SUGESTÕES PARA TRABALHOS FUTUROS .....	69
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS .....	70

## 1 INTRODUÇÃO

O envelhecimento é um processo natural de todo e qualquer indivíduo, entretanto é aceito e vivenciado de maneiras diferentes a depender da cultura e sociedade em que ele vive. No caso das mulheres, as mudanças corporais e reprodutivas são o indicativo do processo de envelhecimento caracterizado pelo início da fase do climatério, a qual se trata de uma condição natural onde ocorre a redução na produção dos níveis de estrogênio, levando a desordens que podem afetar fisiologicamente e psicologicamente as mesmas (Pinhat, 2017; Rocha *et al.*, 2018).

As mulheres menopausadas podem apresentar sintomas típicos decorrentes da alteração no conteúdo hormonal. Essa condição fisiológica desencadeia sintomas como manifestações genitais na redução da libido; extragenitais como dispareunia, atrofia e distrofia da vulva; psíquicos a exemplos de fogachos, cefaleia, irritabilidade, alteração do humor e depressão, afetando gravemente a qualidade de vida e atividade sexual. Diante disso, a terapêutica padrão utilizada é a reposição de estrogênio administrada por via sistêmica ou vaginal, porém é válido salientar, que o tratamento local via vaginal com o princípio ativo promestrieno é bem mais tolerado pelas mulheres, tendo em vista, o temor do desenvolvimento de câncer de mama (Pompei, Fernandes e Melo, 2010; Ferreira, Silva e Almeida, 2015).

O promestrieno é utilizado nos tratamentos de reposição hormonal, apresentando evidências de ser absorvido por via vaginal ou através da pele, fazendo dele o candidato ideal na reposição de estrogênio via vaginal, com ação trófica local e sem ação sistêmica. Ademais, a motivação de utilização do promestrieno nesse trabalho se fundamenta pela não existência desse fármaco incorporado numa matriz polimérica no formato de anel intravaginal, o que viabilizaria um sistema de liberação controlada do estrogênio. Além disso, o uso do anel possibilitaria uma melhora na relação sexual e também a reduziria a necessidade de uso diário do creme vaginal, diminuindo a incidência de infecções locais, dor durante a aplicação e sangramentos (ANVISA, 2015; Sousa *et al.*, 2018).

O uso de sistemas de liberação de fármacos ou o ajustamento dos existentes, a exemplo dos anéis poliméricos de liberação hormonal, é uma alternativa interessante do ponto de vista médico. Os anéis comercializados são de materiais poliméricos com baixo índice biodegradabilidade e, apesar da alta eficácia no seu

uso, é necessária sua retirada após certo período de funcionalidade. Conseqüentemente, o desenvolvimento de um anel intravaginal biodegradável apresenta-se como uma possibilidade terapêutica, pois não existe um produto comercial nesse aspecto composto por promestrieno, ampliando as opções no tratamento de mulheres menopausadas (Nuvaring, 2018).

Nesse contexto, observa-se a necessidade da obtenção de um biomaterial que desempenhe sua função de forma eficaz e que seja biodegradável e bioabsorvível, evitando a necessidade da sua posterior retirada. Nesse caso, o uso dos polímeros de origem natural como a quitosana atendem aos requisitos exigidos devido as suas características, sendo esses amplamente estudados em diversas aplicações na área de saúde (Nwe, Furuike e Tamura, 2009; Trovatti *et al.*, 2016).

As limitações de dispositivos de quitosana estão relacionadas à sua resistência mecânica e a maleabilidade, no entanto, essas propriedades podem ser modificadas para atender a sua aplicação. A utilização da técnica de tecelagem de fios pode ser uma alternativa para aperfeiçoar o desempenho e propriedades mecânicas desses dispositivos, deste modo não sendo necessário o uso de agentes reticulantes que, na grande maioria, apresentam certa toxicidade, o que limita seu uso. Desta forma, o presente trabalho teve como objetivo desenvolver anéis intravaginais de quitosana/promestrieno obtidos pela técnica de tecelagem para liberação controlada do fármaco promestrieno.

## 2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

### 2.1 Anatomia pélvica feminina

A região pélvica é composta por uma estrutura rígida e forte, apresenta em sua constituição os ossos íliacos unidos pela sínfise púbica, ísquio, sacro e o cóccix, interligados por ligamentos densos, fibras musculares lisas e condensações. É um local de funcionalidade importante, com atuação na proteção e sustentação dos órgãos, fixação dos membros inferiores e músculos do períneo, e controla a transferência do peso corporal (Moreno, 2009; Silva e Silva, 2019).

A estrutura de sustentação é caracterizada pelos músculos elevadores do ânus e pela fáscia endopélvica. O pubococcígeno, pubretal e iliococcígeo compõem os músculos elevadores do ânus, sendo estes responsáveis por prover uma superfície firme para as vísceras pélvicas. Já a fáscia endopélvica envolve todos os órgãos da região pélvica e os conecta a musculatura através de uma rede de tecidos conjuntivos. No trato urogenital feminino encontram-se órgãos genitais internos e externos, sendo os internos representados por ovários, tubas uterinas, útero e a vagina; os externos são constituídos pela vulva e pelo períneo. Todas essas estruturas possibilitam a manutenção da posição habitual da vagina e útero, além de permitir o armazenamento de fezes e urina, coito, trabalho de parto e parto (Horst e Silva, 2016; Amaral, 2017).

Deste modo, o pavimento pélvico (Figura 1) é caracterizado pelo conjunto de estruturas (músculos, ligamentos e fâscias) que dão suporte as vísceras pélvicas e abdominais. Fica localizado na parte entre o limite inferior da cavidade pélvica e superior do períneo e vai do púbis ao cóccix. É atravessada por três orifícios, à frente pela uretra e vagina e ao centro pelo reto. Esse complexo atua na contração e auxilia a continência urinária e fecal, além de também participar em algumas funções sexuais (Silva, 2012; Maia, Roza e Mascarenhas, 2015).

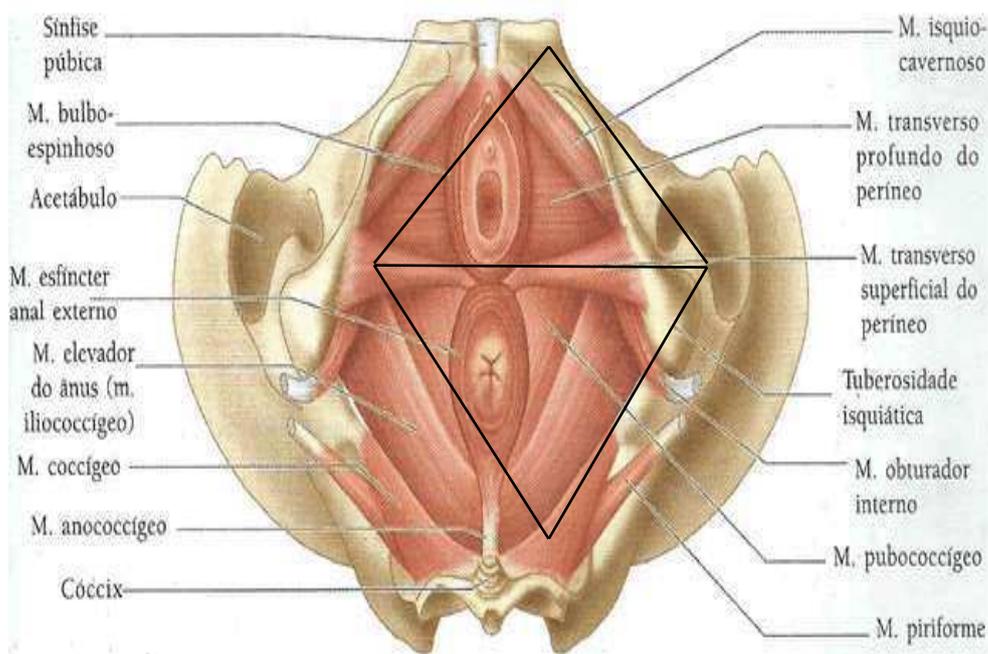


Figura 1 – Músculos do Diafragma Pélvico e Urogenital (Henscher, 2007).

Essa região apresenta dois tipos de estruturas musculares, entendidas como o diafragma pélvico e diafragma urogenital. A primeira engloba inferiormente à pélvis, púbis e cóccix e, lateralmente, as paredes do pavimento pélvico, enquanto que o diafragma urogenital é responsável pela ação da continência, situando-se na camada mais superficial e distal do pavimento pélvico (Stephenson e Connor, 2004; Uchôa, 2011).

### 2.1.1 Órgãos da cavidade pélvica

A cavidade pélvica feminina é composta pelos órgãos internos e externos. Os órgãos internos são ovários, tubas uterinas, útero e vagina, os quais têm ação simultânea com a fáscia, ligamentos e músculos, já os órgãos externos compreendem o monte de Vênus (monte púbico) e a vulva, que engloba os grandes lábios, os pequenos lábios e o clitóris. A integridade dessas estruturas é imprescindível, tendo em vista que o bom funcionamento dos órgãos está estritamente ligado ao conjunto geral da região pélvica (Silva, 2012; Rocha e Mejia, 2016).

A ligação entre os órgãos internos pélvicos e os órgãos externos pélvicos, ocorre através da vagina. A vagina é um órgão de grande importância, caracterizado como um canal fibromuscular achatado com quatro paredes medindo de 8 a 10 cm

de comprimento, que se estende do colo do útero e vai até o vestíbulo do orifício vaginal (Figura 2) (Baracho, 2007; Silva e Silva, 2019).

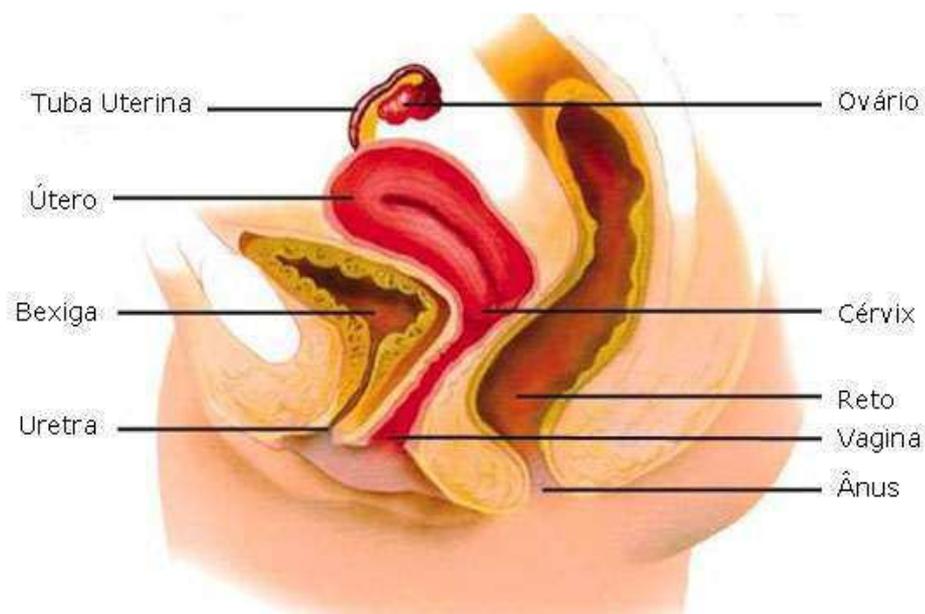


Figura 2 – Anatomia Vaginal (Henscher, 2007).

A vagina apresenta três compartimentos, divididos em anterior, apical e posterior, e esta é suspensa anteriormente pelo ligamento pubo-uretral, superiormente pelo arco tendíneo da fáscia endopélvica e posteriormente pelo ligamento úterosacral, e junto com sua força elástica promove equilíbrio durante os movimentos de contração (Moreno, 2009; Bernardes, 2011).

Na superfície mucosa da vagina está situado o sulco longitudinal onde se estendem as rugas ou elevações transversais secundárias. As camadas constituintes da parede vaginal estão subdivididas em epitélio pavimentoso estratificado não queratinizado, o qual está localizado subjacente a lâmina de tecido conjuntivo, composto por células ricas em glicogênio, estruturas como a camada muscular, rica em colágeno e elastina, além de conter uma grande quantidade de canais vasculares e linfáticos, fibras musculares lisas ordenadas dispostas de forma circular e longitudinal, internamente e externamente respectivamente, e uma camada adventícia que se funde com as fáscias, constituída de tecido conjuntivo denso, (Figura 3) (Baltazar e Barros, 2014).

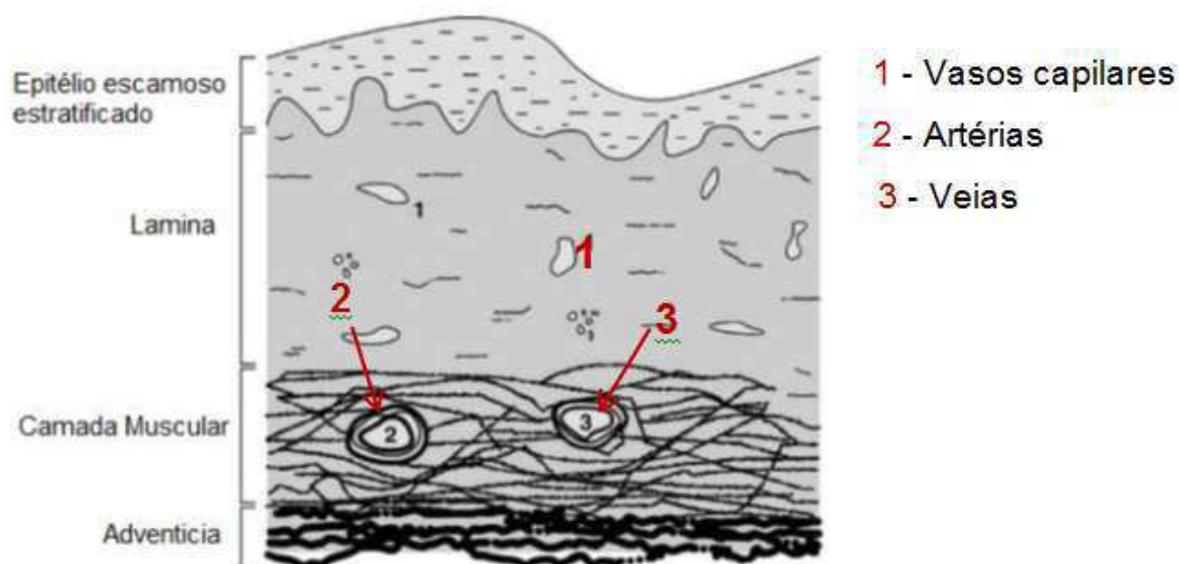


Figura 3 – Desenho esquemático da histologia vaginal (Adaptado de Neves e Bahia, 2006).

É importante perceber que as propriedades tróficas da vagina são influenciadas pelos níveis de estrogênio, ou seja, a manutenção da homeostase vaginal depende da regulação hormonal, o que permite melhor elasticidade e resistência ao microtrauma coital, resposta vascular perivaginal e renovação e lubrificação da mucosa vaginal (Baltazar e Barros, 2014; Silva *et al.*, 2017).

Quanto aos aspectos fisiológicos da vagina, pode-se dizer que a mesma recebe grandes quantidades de glicogênio, o qual é lançado na luz do canal vaginal quando há uma descamação de células e, quando metabolizado por bactérias, mais conhecidas como bacilos de Döderlein, formam ácido láctico, havendo assim o processo de manutenção do pH normal da vagina. Esse direcionamento de glicogênio é promovido pelo estrogênio, conferindo a homeostase vaginal observada pela coloração rosa normal e aspecto úmido na vagina, ademais outra função do estrogênio é manter a espessura das multicamadas do epitélio escamoso (Souza, 2010; Silva, 2012).

Diante disso, a manutenção do pH normal da vagina que varia de 3,8 a 4,2, se caracteriza como algo fundamental na vida da mulher. As oscilações do pH vaginal em mulheres com idade reprodutiva saudáveis, podem estar associadas a vários fatores, que vão desde a falta de estrogênio, como a presença de sêmen e produtos de higiene feminina. Portanto, é observado que durante o processo de envelhecimento, as mulheres no início da fase climatérica sofrem alterações significativas na fisiologia vaginal, tais como o aumento do pH vaginal (6,0-7,5) e

diminuição na quantidade da produção de secreções vaginais, podendo desencadear a atrofia progressiva do epitélio vaginal. Nesse sentido, o desenvolvimento de patologias e a eficácia dos sistemas de liberação de fármacos são influenciados pelo pH vaginal (Neves e Bahia, 2006; Am *et al.*, 2013).

## 2.2 Hormônios sexuais femininos

Os hormônios são substâncias químicas responsáveis pela manutenção e constância das funções metabólicas, conseqüentemente da integridade e funcionalidade dos sistemas do organismo. São secretados para o sangue por células especializadas, regulando o crescimento e desenvolvimento de células e tecidos, intervêm no comportamento sexual e na reprodução e atuam como moléculas sinalizadoras (Albernaz, 2012; Pires *et al.*, 2018).

No caso dos hormônios sexuais femininos, alguns merecem destaque por atuarem na saúde e no bem estar da mulher. São estes o estrogênio, a progesterona e a testosterona, sintetizados pelos ovários (Oliveira *et al.*, 2016; Silva *et al.*, 2019).

O principal hormônio feminino é o estrogênio, sendo este relacionado ao controle da ovulação e o desenvolvimento de características femininas, tais como, crescimento e o desenvolvimento de células epiteliais vaginais; revestimento do endométrio; aumento da libido e da massa muscular da região íntima. Além disso, produz outros efeitos no organismo, no sistema cardiovascular e na composição óssea (Silva, 2012; Oliveira *et al.*, 2016).

Nesse contexto, o cérebro humano se torna um alvo para os hormônios esteróides gonadais, assim os estrogênios influenciam na função neural através dos efeitos sobre os neurônios e afetam indiretamente o estresse oxidativo, a inflamação, o sistema vascular cerebral e o sistema imunológico (Moradi, Sadatmahalleh e Ziaei, 2019).

Diante disso, o hipoestrogenismo quando relacionado às alterações dos órgãos urogenitais, acarreta em disfunções e enfraquecimento do assoalho pélvico, afeta a qualidade de vida da mulher, ocasiona a diminuição da força e massa muscular, decorrente da diminuição na irrigação tecidual local da pressão uretral, favorecendo ao desenvolvimento de patologias. Essa condição pode estar associada à diversas causas, no entanto, o decaimento dos níveis hormonais ocorre de forma

natural na vida da mulher por um processo que se inicia com a entrada desta no período do climatério aos 35 anos de idade (Accorsi *et al.*, 2006; Selbac *et al.*, 2018).

### 2.3 Climatério

A fase do climatério inicia-se por volta dos 35 anos e pode se estender até os 65 anos de idade e é entendida como um fenômeno endócrino fisiológico decorrente da redução do conteúdo hormonal de estrogênio e esgotamento dos folículos ovarianos. Esse período apresenta várias disfunções no trato urogenital e é caracterizado e dividido em três etapas distintas que são a pré-menopausa, menopausa e pós-menopausa, sendo a menopausa o período com maior evidência dos sintomas relacionados ao envelhecimento corporal, sobretudo no assoalho pélvico (Almeida *et al.*, 2016; Teixeira *et al.*, 2016; Souza *et al.*, 2019).

A menopausa é uma alteração fisiológica normal que ocorre na meia-idade de uma mulher. Durante este tempo, as mulheres experimentam problemas vasomotores, físicos e fisiológicos, reduzindo sua qualidade de vida. A idade média da menopausa na Europa é 51,3; na América, 52,5 anos; enquanto na América Latina é 48,3. A idade do último período de menstruação é afetada por baixa atividade física, menor nível de escolaridade, contracepção hormonal, tabagismo e ingestão de álcool (Magdalena *et al.*, 2019).

O decaimento nos níveis hormonais de estrogênio nas mulheres ocorre a partir do climatério, mas é observado de forma mais significativa na menopausa, onde se tem maior alteração fisiologia normal pelo baixo conteúdo hormonal. Essa modificação no conteúdo hormonal promove diversos distúrbios que afetam significativamente o estado de saúde da mulher, como distúrbios de calor, distúrbios de sono, secura vaginal e alterações de humor. A concentração inferior a 100 pmol/L de estradiol no soro reflete o início da menopausa e, em detrimento a esse fato, ocorre eventualmente um aumento no nível do hormônio luteinizante (LH) (Yakabe, 2004; Botelho *et al.*, 2015).

Posteriormente caracteriza-se o período pós-menopausa, o qual acontece em duas etapas. A primeira proporciona um declínio e flutuações dos hormônios ovarianos e é definida como os primeiros cinco anos que sucedem o último período menstrual, enquanto que a segunda permanece até o final da vida da mulher e ocorre após passada a primeira etapa da pós-menopausa (Silva, 2012).

O número de mulheres que experimentam alguns ou todos os sintomas da menopausa é crescente. Em estimativas recentes cerca de 70% das mulheres pós-menopausadas continua sentindo os sintomas da menopausa, representando uma parcela significativa da população e, a presença dos sintomas é decorrente de pontos específicos na transição da fase da menopausa (Novaes *et al.*, 2017; Omodei, 2019).

As fases supracitadas são caracterizadas a partir da incidência do hipoestrogenismo, o qual acarreta atrofia das estruturas que compõe o assoalho pélvico, conseqüentemente envelhecimento do mesmo, causando frouxidão e menor elasticidade do aparelho de suspensão e sustentação da estática pélvica. Sendo assim, tem-se um aumento na quantidade do hormônio estrogênio circulante em mulheres na pós-menopausa associado ao estroma, o qual é sintetizado por meio da conversão periférica de androstenediona através da enzima aromatase extra glandular (Accorsi *et al.*, 2006; Silva, 2012).

As alterações urogenitais decorrentes do déficit de estrogênio no organismo ocasionam a diminuição das secreções vaginais, modificação da flora vaginal e o aumento do pH, causando maior sensibilidade das terminações nervosas e ressecamento vaginal progressivo (Oliveira *et al.*, 2010; Corleta e Kalil, 2018). Além disso, provoca redução na massa muscular, aumento da concentração de colágeno e suas ligações cruzadas no local, desenvolvendo várias patologias, dentre elas o prolapso genital, incontinência urinária, atrofia vaginal, dentre outros (Botelho *et al.*, 2015).

Tais desordens do pavimento pélvico são características da deficiência estrogênica, podendo causar importantes modificações no sistema geniturinário e instabilidades vasomotoras. Ademais, o hipoestrogenismo também pode determinar alterações psicológicas em mulheres menopausadas e pós-menopausadas, a exemplo da insatisfação sexual e mudanças repentinas de humor (Oliveira e Costa, 2015; Santos, Pereira e Santos, 2016).

A sexualidade tem um papel importante na saúde, bem-estar, autoestima e qualidade de vida de uma pessoa, principalmente na pós-menopausa. De acordo com a definição da OMS, “Saúde Sexual é um estado de bem-estar físico, emocional, mental e social em relação à sexualidade; não é apenas a ausência de doença, disfunção e enfermidade” (Neelam *et al.*, 2019).

Os tecidos que fazem parte do assoalho pélvico tais como o vaginal, uretral e os da base da bexiga são indicados como estrogênio-sensível, ou seja, seu desenvolvimento e funcionamento são dependentes da concentração dos níveis hormonais e, sua deficiência pode acarretar em diversas patologias. Os sintomas vaginais incluem dispareunia e ressecamento e possibilita a evolução das infecções vaginais e eventuais sangramentos. Quanto aos sintomas urinários são citados a disúria, infecção no trato urinário e a incontinência urinária decorrente do aumento da resistência periuretral, aumento da sensibilidade dos receptores alfa-adrenérgicos no músculo liso e do relaxamento dos receptores adrenérgicos do músculo detrusor (Yakabe, 2004; Silva *et al.*, 2017).

Outras desordens também afetam as mulheres na menopausa, como o risco de doença cardiovascular quando os níveis de estrogênio diminuem. Tipicamente, as mulheres são cerca de 10 anos mais velhas do que os homens na primeira apresentação da doença coronariana aterosclerótica, e isso pode estar relacionado ao declínio nas concentrações dos hormônios ovarianos durante a transição da menopausa (Takamune *et al.*, 2018; Annil, Ranu e Varun, 2019).

A atrofia vaginal é um sintoma relacionado às desordens do pavimento pélvico em decorrência do hipoestrogenismo no período referente ao climatério, que aparece em médio prazo mais frequentemente e causa alterações que modificam o epitélio vaginal, atrofiando as glândulas endocervicais, causando a proeminência dos pequenos lábios, estreitando o seu canal e diminuindo o calibre dos orifícios externos. Essa atrofia ocasiona as disfunções vesicais, sexuais e aumento do risco de infecções secundárias (Silva, 2015).

A menor maturação celular é observada no esfregaço vaginal com sintomas de atrofia, os processos fisiológicos que advém desse sintoma são o aumento da participação proporcional das células basais e redução das células intermediárias e superficiais do epitélio (Pompei, Fernandes e Melo, 2010).

Em detrimento aos sintomas como ondas de calor que são temporários e atenuam ou até mesmo extinguem-se na ausência de tratamento, os problemas associados à atrofia urogenital só aumentam com a idade e não regredem espontaneamente. A ocorrência destes proporciona a essas mulheres um tempo de sofrimento prolongado e silencioso, afetando ainda o humor e a autoestima (Chatsiproios *et al.*, 2019).

A Sociedade Americana de Menopausa revela que apenas 25% das mulheres sintomáticas recebem tratamento medicamentoso e que os sintomas relacionados à atrofia urogenital afetam aproximadamente 40% destas, sendo esse um problema de importante relevância. Mediante o exposto, para àquelas mulheres que precisam de tratamento vislumbrando à melhora dos sintomas, mostra-se eficaz a terapia hormonal, a qual pode ser administrada via oral e via vaginal (Faro e Russo, 2017).

## 2.4 Terapia Hormonal

A terapia hormonal da menopausa continua sendo uma modalidade terapêutica dominante na medicina climatérica. A habilidade médica central é a capacidade de escolher a preparação ideal para o paciente em questão. Essa escolha é baseada na compreensão de vários efeitos clínicos e metabólicos, dependendo da composição, dosagem e método de aplicação (Tomas, 2019).

Uma das alternativas mais utilizadas no tratamento do déficit de hormônios estrogênicos é a Terapia de Reposição Hormonal (TRH). Trata-se de uma terapêutica utilizada no alívio dos sintomas nesta etapa da vida que tem proporcionado benefícios consideráveis na saúde das mulheres que o recebem quando empregado em curtos períodos. Entretanto, o uso dessa terapia é contraindicado quanto à prevenção primária e secundária de doenças cardiovasculares, sendo ineficaz também na proteção de doenças de Alzheimer e demências vasculares, pois, quando usada por muito tempo, desencadeia e promove o risco de agravamento de algumas destas e o desenvolvimento de outras, a exemplo do câncer de endométrio, de mama e de ovário (Gellati *et al.*, 2015; Bezerra *et al.*, 2019).

A terapêutica com hormônios é prescrita para atenuação dos sintomas indesejáveis na fase do climatério, possibilitando a redução dos sintomas vasomotores, conservação do trofismo urogenital, preservação da massa óssea e do colágeno, melhorando assim o bem-estar e a sexualidade feminina. No entanto, a administração de hormônios sexuais femininos por meio da Terapia de Reposição Hormonal (TRH) após a menopausa é indicada apenas em alguns casos (Soares, Batista e Sousa, 2019).

Em determinados quadros clínicos utiliza-se de um progestágeno para profilaxia e hiperplasia endometrial aliado a um componente estrogênico, no caso de

mulheres que apresentem útero intacto ou histórico de endometriose (com ou sem útero) e, a prescrição do tratamento pode ser feita de modo contínuo, onde os hormônios são utilizados ininterruptamente, ou através de ciclos, com intervalo de tempos predeterminados. Além disso, as vias de administração e a posologia dependerão da avaliação clínica e da preferência do paciente, porém é importante adequar o tratamento para que este não traga risco à saúde das mulheres, pois estudos relatam que pacientes com idade inferior a 60 anos e tempo de menopausa inferior a 10 anos, podem apresentar riscos de doenças cardiovasculares como infarto agudo do miocárdio (Clapauch *et al.*, 2005; Panazzolo *et al.*, 2014).

Deste modo, o uso das terapias convencionais por meio de hormônios sob forma exógena, possui variadas formas para sua utilização, incluindo: comprimidos, pomada, lubrificantes, hidratantes e adesivos (Faro e Russo, 2017). A dosagem utilizada pode variar de acordo a associação com outros hormônios, ou a própria manipulação do princípio ativo, como no caso do promestrieno. Entretanto, vale salientar que a depender das necessidades e individualidade de cada mulher são feitos ajustes de dosagem (Rosa-Silva e Melo, 2010; Politano *et al.*, 2019).

Nesse contexto, há de se observar além dos parâmetros supracitados a via de administração, sabendo que, quando administrados por via não oral, impossibilitam o metabolismo de primeira passagem pelo fígado, conseqüentemente tem-se uma redução no potencial para estímulo das proteínas hepáticas, nos fatores de coagulação e perfil metabólico neutro, sendo mais favorável quanto aos riscos eminentes de agravamento e desenvolvimento das doenças mencionadas anteriormente (Pardini, 2014).

#### **2.4.1 Promestrieno**

São hormônios sexuais femininos o estrogênio, a progesterona e a testosterona, sendo estes sintetizados nos ovários. Estes podem ser utilizados em variadas formas e formulações, como é o caso dos adesivos transdérmicos e as pomadas ou géis para aplicação tópica direta. O uso da terapia tópica pela via intravaginal é considerada a melhor para utilização na TRH, haja vista que o canal vaginal é altamente vascularizado, possibilitando uma ótima absorção sem degradação imediata do hormônio, favorecendo a uma redução dos efeitos adversos (Faro e Russo, 2017; Chatsiproios *et al.*, 2019).

No caso de cremes estrogênicos, existem no mercado brasileiro 3 formulações, os conjugados, o estriol e promestrieno, além dos hidratantes vaginais não hormonais, porém o princípio ativo mais utilizado e que apresenta menor efeito adverso dentre os mencionados é o promestrieno (Pinhat, 2017).

O promestrieno é um princípio ativo análogo do estradiol, de fórmula molecular  $C_{22}H_{32}O_2$  e estrutura química correspondente a Figura 4. Provém do estrogênio sintético e apresenta absorção mínima (inferior a 1%) na fase inicial de tratamento, quando utilizado na mucosa vaginal, contudo, com tratamento continuado sua absorção diminui (Lage, 2013).

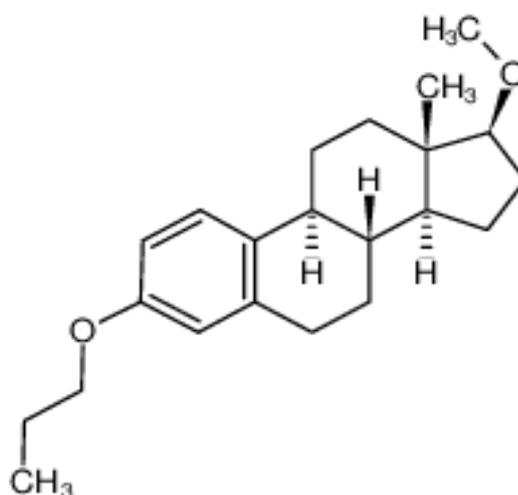


Figura 4 – Estrutura química do promestrieno (estradiol 3-propil 17 $\beta$ -metil dieter) (Fonte: <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/Promestriene#section=Top>, 2018).

O promestrieno não afeta significativamente os níveis hormonais sistêmicos quando absorvido através da vagina, pois não estimula órgãos estrogênio dependentes, como é o caso do endométrio e da mama (ANVISA, 2015). A baixa atividade metabólica na parede vaginal permite o uso de hormônios naturais, em vez dos sintéticos, sendo este fato clinicamente relevante por evitar potenciais efeitos adversos dos esteroides sintéticos (Lage, 2013; Almodovar *et al.*, 2019).

O tempo médio para ação terapêutica do promestrieno no organismo, ocorre em torno de sete dias, e a sua meia-vida biológica é de 24 h, não possui efeitos acumulativos para que seu mecanismo de ação seja eficaz, restaurando o trofismo da mucosa do trato genital (Lage, 2013; Anvisa, 2015).

Nos últimos tempos, a utilização de fármacos associados aos biomateriais tem apresentado bastante eficácia, tanto no modo de utilização como no controle

para sua liberação, através do qual promove certo conforto e, conseqüentemente, uma melhor qualidade de vida.

## 2.5 Biomateriais

A utilização dos biomateriais não é recente e sua aplicação na correção dos mais diversos tipos de problemas relacionados à saúde humana remonta à antiguidade. São definidos como dispositivos que entram em contato com sistemas biológicos, podendo ser constituídos por compostos de origem sintética ou natural, assim como de materiais naturais quimicamente modificados, tanto na forma de sólidos quanto de géis, pastas ou mesmo líquidos (Ratner *et al.*, 2013; Pires, Bierhalz e Moraes, 2015).

O campo da ciência dos biomateriais abrange quatro classes principais do ponto de vista da Engenharia de Materiais: poliméricos, cerâmicos, metálicos e compósitos. Estes materiais são amplamente utilizados na ginecologia, obstetrícia, odontologia, oftalmologia, ortopedia, ou seja, em diversas aplicações médicas e biológicas. Além das considerações acerca das classes dos materiais, um fator considerado primordial na utilização ou combinação desses, para que possam atuar em sistemas *in vivo* de forma eficiente e/ou reparadora em determinada perda ou patologia, é a biocompatibilidade (Park e Lakes, 2007; Oréfice, Pereira e Mansur, 2012).

A biocompatibilidade é definida como a capacidade de um material apresentar resposta apropriada, quando aplicado, não causando reação inflamatória crônica, reação de corpo estranho ou mesmo toxicidade. Ela gira em torno da interação celular com o biomaterial. Além da biocompatibilidade, particularmente a biodegradabilidade e a bioabsorção, são características desejáveis neste trabalho (Santos Júnior e Wada, 2007; Williams, 2008; Silva *et al.*, 2016).

Sabendo disso, os biomateriais poliméricos estão entre os mais empregados no âmbito médico. Dentre suas principais características apresentam-se as propriedades físico-químicas, sua versatilidade estrutural, que permite adequá-los a cada aplicação específica, geralmente baixo custo de fabricação de dispositivos, a diversidade de polímeros sintéticos e naturais e a relativa facilidade de obtenção, além de serem funcionalmente ativos, ou seja, cumprirem com sucesso suas

funções dentro do corpo. Para adequar a aplicação a que se destina, podem ser obtidos compósitos de polímeros que aliam suas diferentes propriedades (mecânicas, térmicas e viscoelásticas) para obter o melhor resultado pretendido nas diversas aplicações (Oréfice, Pereira e Mansur, 2012; Ratner *et al.*, 2013; SRIVASTAVA *et al.*, 2015).

Para tanto, a utilização de biomateriais à base de quitosana é uma realidade na área da saúde, e sua aplicação vem sendo estudada em vários campos, desde a indústria farmacêutica até a engenharia tecidual. Tendo em vista que esses polímeros naturais possuem grupos funcionais (como grupamentos amino, grupos carboxílicos e hidroxilas) disponíveis para modificações químicas (hidrólise, oxidação, redução, esterificação, ligações cruzadas, etc.) e enzimáticas e que também interagem com outras moléculas, através destes pode-se obter uma ampla variedade de produtos com propriedades adaptáveis (Gomes *et al.*, 2013).

### 2.5.1 Quitosana

A estrutura polimérica baseada em polissacarídeos torna a quitosana um polímero com potencial uso como biomaterial. Estruturas aleatórias ou blocos distribuídos ao longo cadeia de N-acetilglucosamina e N-glucosamina define suas propriedades e, portanto, se tem quitina ou quitosana. A porcentagem das unidades N – glucosamina é definida como grau de desacetilação (GD) da quitosana, e é utilizado como parâmetro na diferenciação entre quitina e quitosana, caracterizando o polímero como quitosana quando apresentar GD acima de 50% (Jiang *et al.*, 2014; Santos *et al.*, 2019).

A quitosana é derivada da desacetilação parcial da quitina que, por sua vez, é o segundo polímero natural mais abundante, perdendo apenas para a celulose. A mesma é biodegradável, atóxica e encontrada no exoesqueleto de artrópodes e nas paredes celulares de alguns fungos e bactérias. É usualmente obtida do descarte de processamento de alimentos provenientes do mar, principalmente das cascas de caranguejos, camarões e lagostas. A fórmula química da quitina e quitosana estão ilustradas na Figura 5 (Jiang *et al.*, 2014; Jayakuma, 2018).

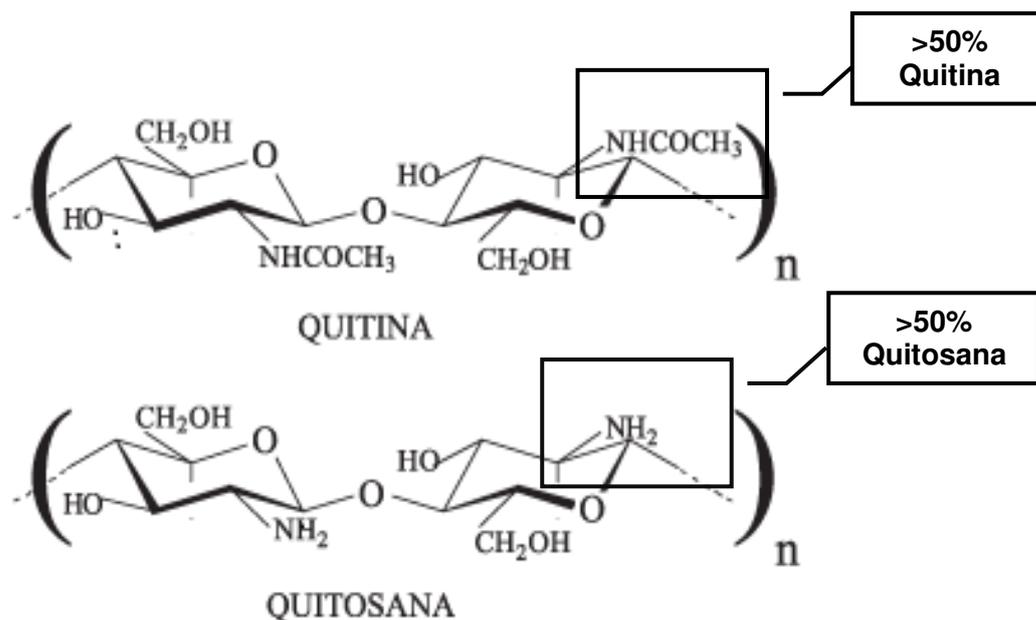


Figura 5 – Estrutura química da quitina e quitosana (Adaptado Battisti e Campana-Filho, 2008).

De forma geral, a quitosana oferece amplas possibilidades de utilização para engenharia de tecidos, seja na forma de géis, esponjas, fibras, arcabouços porosos associados ou não a outros materiais poliméricos, os quais podem ser adequados dependendo do tipo de aplicação. Suas características têm se mostrado importantes para utilização como biomaterial, tais como biocompatibilidade, biodegradabilidade e baixa antigenicidade (Hu *et al.*, 2013; Silva *et al.*, 2019).

Na liberação controlada de fármacos, a quitosana tem sido empregada como veículo mucoadesivo de liberação local ou isolada, na forma de filmes, hidrogéis, partículas, cápsulas, entre outros. Ademais, deve-se ressaltar que, além da forma e do local de aplicação onde a quitosana é utilizada, os parâmetros físico-químicos do polímero devem ser observados, como o GD e peso molecular, pois esses alteram o tempo de absorção, biodegração e liberação do fármaco (Egaldir *et al.*, 2015).

## 2.6 Liberação Controlada de Fármacos

A formulação de medicamentos para liberação controlada de fármacos envolve o conhecimento da físico-química de polímeros, o estudo da dosagem reprodutível do fármaco e sua farmacologia clínica, para que seja possível obter um sistema que controle a entrada do medicamento no corpo, dentro das especificações do perfil de fornecimento necessário deste durante certo período de tratamento.

Para isso, é necessário um planejamento, através de uma abordagem de sistema para projetos experimentais, de modo a permitir a quantificação necessária da resposta biológica (Kydonieus, 2017; Bruck, 2019).

A eficácia dos medicamentos está diretamente relacionada à forma pela qual são administrados. A forma de administração pode afetar a sua farmacocinética, na absorção, distribuição, duração do efeito terapêutico, metabolismos, excreção e toxicidades e; a sua farmacodinâmica, nos efeitos fisiológicos e mecanismos de ação. Nos métodos convencionais de liberação, o nível de fármaco é liberado rapidamente após a administração, sendo empregados nesses sistemas diluentes solúveis, desintegrantes e/ou outros recursos que favorecem os processos de liberação e dissolução do fármaco (Pezzini, Silva e Ferraz, 2007; Tibbitt, Dalhman e Langer, 2016).

Uma das limitações da administração de fármacos pelo método convencional está relacionada à sua toxicidade, influenciada também pela presença de moléculas introduzidas em uma formulação para melhorar a fraca solubilidade aquosa de muitos medicamentos orgânicos e de moléculas pequenas durante a preparação farmacêutica. Portanto, o desenvolvimento de materiais de entrega ideais podem melhorar significativamente sua eficácia terapêutica e permitir a administração combinada de medicamentos convencionais, potencializando possivelmente seus efeitos terapêuticos (Pushpamalar *et al.*, 2016).

Já em sistemas de liberação controlada (Figura 6), o fármaco pode ser liberado através do dispositivo de maneira sustentada, retardada, pulsátil e prolongada oferecendo várias vantagens quando comparados à liberação convencional, permitindo que o agente terapêutico seja administrado em intervalos regulares, a fim de manter a sua concentração no plasma dentro da janela terapêutica, mantendo-se constante entre os níveis máximo e mínimo (Bader e Putnam, 2014; Wang, Hu e Siahaan, 2016).

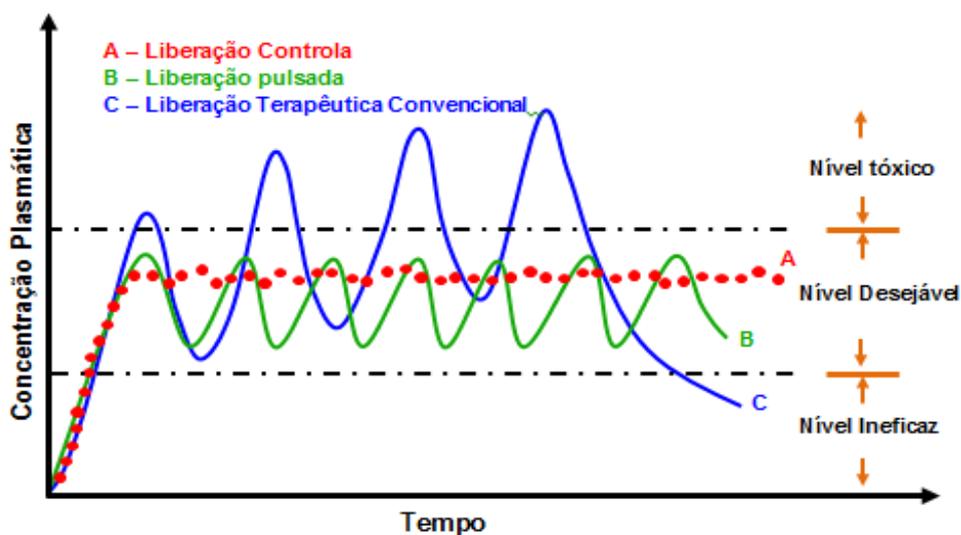


Figura 6 – Modelo esquemático de liberação controlada de fármacos (Batista, 2015).

Os vários sistemas transportadores de fármacos sejam em forma de arcabouços, membranas, anéis entre outros formatos, são capazes de compartimentar a substância ativa e direcioná-la para os sítios onde deverá exercer seu efeito farmacológico, além de poder controlar a velocidade de liberação, sem alterar a estrutura química da molécula transportada. Além disso, vale salientar que a inserção de fármacos na estrutura polimérica da matriz permite um controle adicional sobre a cinética de liberação do fármaco (Oliveira *et al.*, 2004; Luk e Zhang, 2015).

Diante disso, a concepção e o desenvolvimento de sistemas de liberação de fármacos envolvem conhecimentos multidisciplinares que utilizam os mais recentes avanços nas ciências biológicas, farmacêuticas, químicas, físicas e das engenharias sendo vitais para o sucesso do desenvolvimento de produtos. Nesse contexto, a administração de produtos pela via intravaginal apresenta-se como uma alternativa viável, quando se considera a entrega do fármaco. Na vagina os fármacos absorvidos não sofrem metabolismo de primeira passagem, possibilita a distribuição sistêmica eficaz do princípio terapêutico e pode ser usada para liberação controlada de medicamentos. Atualmente utiliza-se de dispositivos intravaginais como é o caso dos anéis intravaginais disponíveis no mercado, que na maioria das vezes são utilizados para liberação controlada hormônios esteroidais contraceptivos e em terapias de reposição hormonal (Del Valle *et al.*, 2009; Nave, 2019).

### 2.6.1 Anéis Poliméricos para liberação intravaginal

Os sistemas de liberação intravaginal incluem uma série de formas farmacêuticas, dentre elas, preparações aquosas, comprimidos, cápsulas, óvulos, preparações líquidas, filmes vaginais, anéis vaginais, espumas e tampões. Todavia, a criação e desenvolvimento de formulações para aplicação intravaginal apresentam algumas dificuldades que, em grande parte, depende da fisiologia e histologia vaginal. Algumas das dificuldades mais recorrentes são a idade da paciente, alterações hormonais e sangramentos vaginais, os quais contribuem para fácil remoção da formulação e, como consequência, o não cumprimento do tratamento (Frank *et al.*, 2014).

Os anéis intravaginais apresentam benefícios em contraste a outras formas de administração, pois possibilita a administração local controlada. Atualmente no mercado existem alguns dispositivos em formato de anel para a administração controlada de substâncias esteróides na vagina, a exemplo do Estring®, Femring® e Nuvaring®. Os anéis comerciais são flexíveis, transparentes, não biodegradáveis com matriz polimérica de poli[(etileno)-co-(acetato de vinila)] (EVA) com 54mm de diâmetro e uma espessura de 4mm, contendo etonogestrel e etinil estradiol (EE). Após o período de funcionalidade terapêutica os anéis intravaginais supracitados precisam ser substituídos, porém apresentam benefícios sobre outras formas de dosagem (Devlin *et al.*, 2018; De Graaff e Verhoeven, 2019).

Um sistema ideal de liberação intravaginal para efeito tópico é aquele que apresenta as características ilustradas na Tabela 1.

Tabela 1 – Características de um sistema ideal de liberação intravaginal

<b>CARACTERÍSTICAS</b>	<b>FUNÇÕES</b>
<b>Fácil aplicabilidade</b>	Não interfira, diretamente, no cotidiano da paciente
<b>Indolor à paciente</b>	Alta biodisponibilidade e pouca variabilidade
<b>Não requiera nenhuma intervenção médica</b>	Não apresente nenhuma interferência a outros medicamentos
<b>Discreto</b>	Distribuição uniforme por toda cavidade vaginal
<b>Reversível</b>	Caso ocorra algum efeito indesejado

**Fonte:** Adaptado de Alexander *et al.* (2004)

Deste modo, o uso de formas farmacêuticas de liberação intravaginal deve não só minimizar a toxicidade sistêmica como também permitir mecanismos de liberação prolongada, liberação contínua e liberação de baixas doses diárias (Alexander *et al.*, 2004; Cook e Brown, 2018).

Uma alternativa mais conveniente e bem aceita pelos pacientes são doses com intervalos de tempo mais longo para consumo diário. Os esforços para desenvolver sistemas alternativos de liberação prolongada estão em andamento e incluem injetáveis, implantes, Dispositivos Intra-Uterinos (DIU), sistema transdérmico semanal e o anel (Vanic e Skalko-Basnet, 2013). No caso de anéis intravaginais de liberação controlada de hormônios, compostos de copolímeros mucoadesivos, Han e colaboradores (2007) verificaram que tais anéis mantiveram uma concentração de liberação constante de cerca de 3 mg/mL durante 28 dias.

Sendo assim, além do possível uso prolongado e perfil de liberação satisfatório, os anéis intravaginais, sobretudo os biodegradáveis, apresentam vantagens quanto ao seu uso e facilidade de aplicação, uma vez que seria possível a inserção do dispositivo no órgão sexual feminino, ou seja, na região pélvica, possibilitando a manutenção das relações sexuais sem nenhum incômodo e não haveria necessidade de retirada deste, o qual seria absorvido após o tempo determinado na terapêutica.

## **2.7 Tecelagem**

As melhorias mecânicas e, conseqüentemente, o prolongamento no tempo de liberação de dispositivos poliméricos, podem ser obtidas por diferentes técnicas de processamento de materiais, a exemplo do uso de agentes reticulantes, como é o caso do glutaraldeído e da genipina. No entanto, o uso desses compostos ocasiona o aumento da citotoxicidade do material de forma que um processo capaz de reduzir a viabilidade na utilização deste em sistemas biológicos seria favorável, por isso a escolha de métodos como a fiação e tecelagem, mostra-se mais eficazes.

A fiação e a tecelagem datam da idade do bronze, sendo consideradas duas das primeiras profissões criadas pelo homem. O ato de tecer pode ser caracterizado pelo entrelaçamento dos fios da trama e do urdume, formando assim os tecidos. Nesse processo, o urdume encontra-se na direção do comprimento do tecido, enquanto que a trama na direção da largura do tecido. Ademais, devem-se observar

algumas características que podem influenciar na produção do tecido e consequentemente nas propriedades mecânicas destes, como é o caso da forma física da fibra, seção transversal, seu contorno e irregularidades superficiais dos fios e a gramatura obtida no processo de tecelagem (Rodrigues, 2010).

Na fiação existem diferentes tipos de fios, sendo os de filamentos contínuos divididos em dois tipos: monofilamentares, quando constituídos por um único filamento e multifilamentares, quando obtidos pela torção de vários filamentos contínuos. O tipo de fiação constitui importante papel nas propriedades do tecido (material), tais como, uniformidade, toque, volume e resistência (Crepaldi, 2017).

Tendo em vista disso, a extrusão de fibras de quitosana e de seus derivados tem sido amplamente estudada para construção de tecidos por meio de tecelagem dos fios, a fim de que proporcione melhoramento das características mecânicas do material para aplicações médicas, em que se necessitem melhores características de resistência e maleabilidade (Lima *et al.*, 2017).

## **2.8 Pesquisas Clínicas**

Pompei e colaboradores (2010) realizaram uma revisão de literatura onde avaliaram a eficácia do promestrieno no alívio dos sintomas decorrentes da atrofia vulvovaginal, seus efeitos na citologia vaginal, e também a absorção do promestrieno quando empregado topicamente. Nessa pesquisa foram incluídos 16 estudos nas bases de dados Medline (via Pubmed), SciELO, LILACS e Biblioteca Cochrane (via Bireme) com os termos “promestrieno”, “promestriene”, “promestr\*” (Pubmed) e “promestr\$” (Bireme). As evidências encontradas confirmaram a eficácia do promestrieno, utilizado localmente no tratamento das afecções atróficas genitais femininas decorrentes do hipoestrogenismo, aliada à absorção sistêmica mínima.

Del Pup e colaboradores (2012) avaliaram o efeito do tratamento com promestrieno vaginal nos níveis séricos de sulfato de estrona em pacientes com câncer durante um mês em escala piloto. O promestrieno vaginal foi testado em pacientes com câncer ginecológico que sofriam de secura vaginal grave e dispareunia. Os resultados obtidos sugeriram que nos pacientes com câncer ginecológico altamente sintomático, o nível de sulfato de estrona circulante não foi significativamente afetado pelo tratamento total com promestrieno vaginal, mas uma

ampla gama de níveis foi observada antes e após o tratamento em pacientes individuais.

Salmon e colaboradores (2013) estudaram a absorção percutânea *ex vivo* do promestrieno no prepúcio infantil exposto à formulação comercial carregada de promestrieno como um pré-requisito para mais testes clínicos em crianças no tratamento da hipospádia, que é um defeito congênito no qual a abertura do trato urinário não está na ponta do pênis e a cirurgia de hipospádia é frequentemente complicada por deficiências de cicatrização durante as primeiras 24h. Nesse caso, a absorção foi investigada a fim de avaliar sua biodisponibilidade cutânea após exposição de pele de 24h, com formulação comercial dosada a  $10 \mu\text{g mg}^{-1}$ . Com base nos ensaios realizados, menos de 2% da dose inicial foi absorvida dentro de 24h, comparada a outros esteróides aplicados topicamente em sistemas coloidais. A permeação do promestrieno através do prepúcio montado em células verticais de difusão estática não foi detectada. No entanto, a penetração de esteroides na epiderme e na derme foi quantificada.

Holm e colaboradores (2014), em seus estudos, avaliaram os padrões de uso da Terapia Hormonal (TH) além de preparações vaginais de estrogênio em mulheres com idade igual ou superior a 45 anos na Finlândia. Nas preparações sistêmicas foram adicionados adesivos de estrogênio, géis e comprimidos, tibolona, preparações de combinação contínua e preparações de combinação sequenciais. Aos estrogênios vaginais prescritos foram incluídos um anel vaginal e comprimidos vaginais.

Esses autores observaram que a prevalência total de uso de TH prescrito permaneceu relativamente constante (26-27%) durante todo o período estudado, porém a participação de mulheres em preparações sistêmicas diminuiu de 21% para 12%, por outro lado houve um aumento da porcentagem de mulheres que usaram estrogênios vaginais de 9% para 19%. Também foram observadas reduções em todas as classes de preparações sistêmicas (de 4,9% para 1,6%) e comprimidos de estrogênio (de 5,2% para 2,9%). As preparações combinadas contínuas permaneceram como os tipos de preparação sistêmica mais comumente usados (5,4 a 4,2%). O uso sistêmico de TH diminuiu na maioria das mulheres entre 45 e 49 anos (9,5% a 4,3%), enquanto o uso de estrogênios vaginais aumentou mais entre os que tinham 65 anos ou mais. Dessa forma, foi verificado que, desde 2009, o estrogênio vaginal é mais comumente prescrito que o TH sistêmico.

Pinhat (2017) avaliou os efeitos de três diferentes tipos de cremes vaginais estrogênicos comparando seus efeitos em relação ao placebo, as mudanças das queixas climatéricas sistêmicas e urogenitais, os efeitos na citologia hormonal vaginal e o impacto e segurança endometrial. A partir dos tratamentos realizados, foi constatado que todos os cremes proporcionaram melhora de queixas, local ou sistêmica, porém, o creme com promestrieno foi o que promoveu melhora das queixas locais, sistêmicas e correspondência na citologia hormonal, sem espessar endométrio.

Haaland e colaboradores (2017) realizaram um estudo para medir os níveis de hormônio contraceptivo residual presentes nos anéis vaginais como um marcador de aderência para verificar a utilização do produto em ensaios clínicos. Foi observado que 81% dos ensaios clínicos apresentaram níveis hormonais contraceptivos dentro dos padrões utilizados atualmente como opção contraceptiva.

Diante das perspectivas observadas nas pesquisas clínicas, verifica-se a necessidade de mais estudos em relação ao fármaco promestrieno, além disso, o trabalho se justifica por não existir anéis biodegradáveis com ação contraceptiva e de rejuvenescimento da região pélvica.

### 3 MATERIAIS E MÉTODOS

#### 3.1 Local da Pesquisa

A pesquisa foi realizada na Universidade Federal de Campina Grande - UFCG, no Laboratório de Avaliação e Desenvolvimento de Biomateriais do Nordeste - CERTBIO.

#### 3.2 Materiais e reagentes

Na Tabela 2 estão listados os materiais e reagentes com sua respectiva origem de obtenção, que foram utilizados para o desenvolvimento da pesquisa.

Tabela 2 – Materiais e Reagentes utilizados na pesquisa

<b>Materiais</b>	<b>Origem</b>
Quitosana – 90% desacetilada	CERTBIO
<b>Reagentes</b>	<b>Origem</b>
Ácido acético glacial P.A. (CH <sub>3</sub> COOH)	Vetec
Hidróxido de sódio P.A. (NaOH)	
Polietilenoglicol (PEG)	
PBS: <i>Phosphate Buffered Saline</i> (PBS) pH = 7,4	Sigma Aldrich®
Lisozima	
Ácido láctico (C <sub>3</sub> H <sub>6</sub> O <sub>3</sub> )	
Água destilada	CERTBIO
Promestrieno comercial (C <sub>22</sub> H <sub>32</sub> O <sub>2</sub> )	Eurofarma

#### 3.3 Métodos

##### 3.3.1 Preparação dos fios de quitosana e quitosana/fármaco

Para a preparação dos fios seguiu-se o fluxograma observado na Figura 7. A solução de quitosana 4% (m/v) foi preparada pela dissolução de 4 g de quitosana aferindo-se a um volume final de 100 mL, com solução a 1% (v/v) de ácido acético sob agitação mecânica a temperatura ambiente (aproximadamente 25° C) por aproximadamente 2h. Em seguida, foram adicionados 0,3 g de promestrieno na solução de quitosana, com base na concentração de fármaco utilizada para 21 dias de tratamento de terapia de reposição hormonal, e obtido os fios com fármaco,

referente à produção de um anel. A solução de quitosana e quitosana/fármaco foi colocada em seringa de 20 mL com abertura na saída de 20 mm de diâmetro e acoplada a uma bomba de infusão com pressão de saída de 0,7 mL/min. O material foi extrusado dentro de uma solução coagulante de hidróxido de sódio numa concentração de 2 mol/L, onde permaneceu por 30 min para obtenção dos fios. Posteriormente, foi retirado, lavado com água destilada e submetido à secagem em temperatura de 24°C durante 24 h.

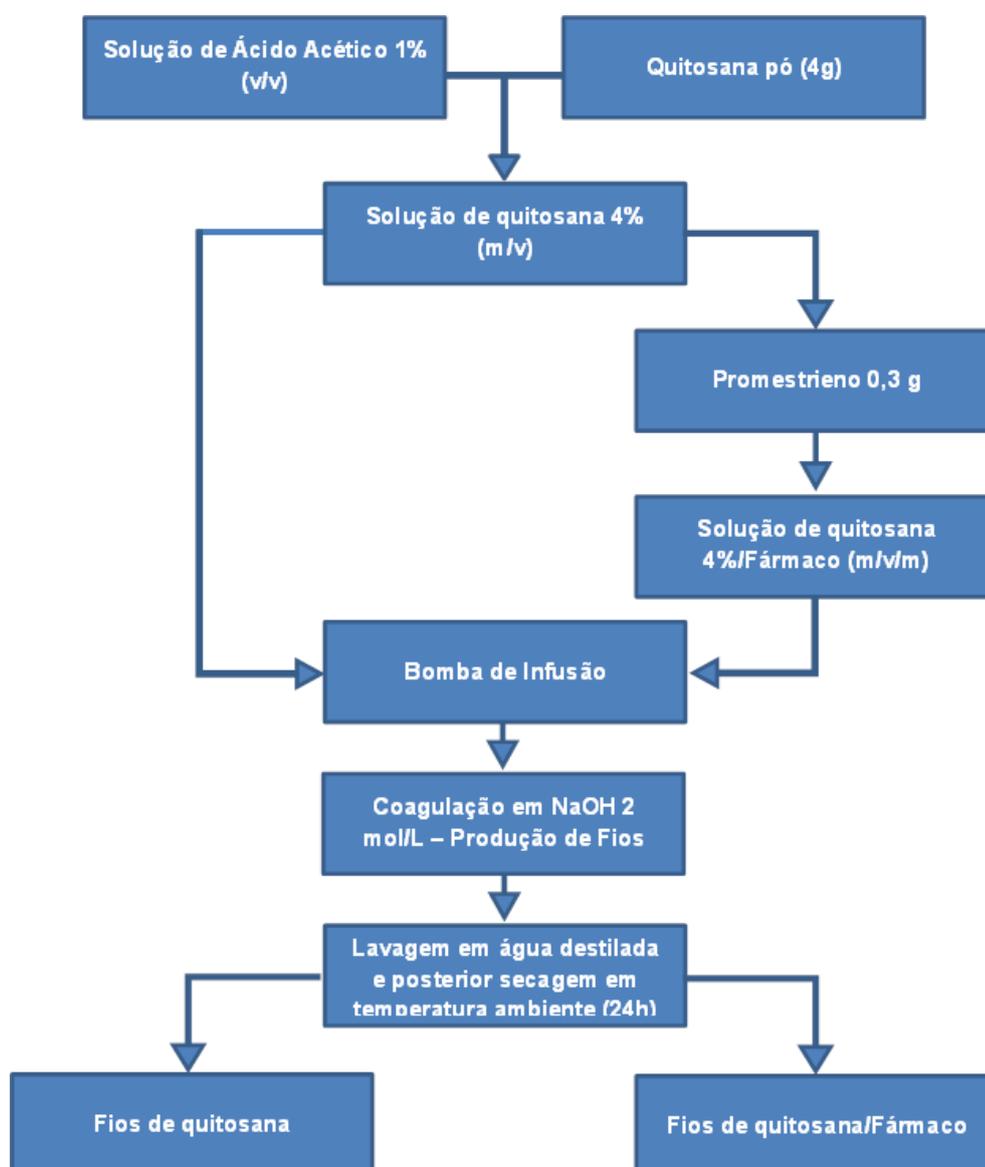


Figura 7 – Fluxograma simplificado da elaboração dos fios de quitosana e quitosana/fármaco.

### 3.3.2 Desenvolvimento do tear

O tear foi projetado no software Solidworks e impresso na impressora 3D da marca Cloner DH Plus. O tear foi desenvolvido em formato circular com 28 pinos (Figura 8).



Figura 8 - Modelo do tear.

### 3.3.3 Obtenção dos anéis de quitosana e quitosana/fármaco

Os fios de quitosana e quitosana/fármaco obtidos foram trançados no formato de anel (Figura 9), por meio de tecelagem com auxílio do tear, por meio da torção e entrelaçamento dos mesmos e foram identificados e caracterizados em sequência.

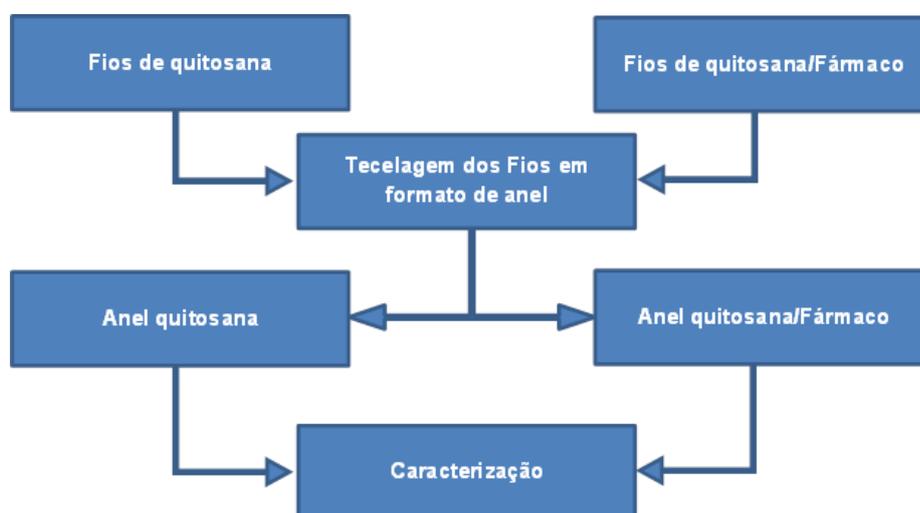


Figura 9 – Fluxograma simplificado da elaboração dos anéis de quitosana e quitosana/fármaco.

Após o desenvolvimento dos anéis, os mesmos foram codificados de acordo com a Tabela 3.

Tabela 3 – Codificação preliminar das amostras.

<b>CODIFICAÇÃO</b>	<b>AMOSTRAS</b>
<b>AC</b>	<b>Anel Comercial</b>
<b>AQ</b>	<b>Anel de Quitosana</b>
<b>AQF</b>	<b>Anel de quitosana fármaco</b>
<b>AQ1PBS</b>	<b>Anel de Quitosana/Biodegradação em PBS 1 dia</b>
<b>AQ1LISO</b>	<b>Anel de Quitosana/Biodegradação em PBS + Lisozima 1 dia</b>
<b>AQ1ACIDO</b>	<b>Anel de Quitosana/Biodegradação em Ácido láctico 1 dia</b>
<b>AQF1PBS</b>	<b>Anel de Quitosana Fármaco/Biodegradação em PBS 1 dia</b>
<b>AQF1LISO</b>	<b>Anel de Quitosana Fármaco /Biodegradação em PBS + Lisozima 1 dia</b>
<b>AQF1ACIDO</b>	<b>Anel de Quitosana Fármaco /Biodegradação em Ácido láctico 1 dia</b>
<b>F</b>	<b>Fármaco</b>

\*Os dias de biodegradação serão ilustrados na codificação através de números. Exemplo: **AQ7PBS** para o anel de quitosana biodegradado em PBS durante 7 dias.

### 3.4 Caracterizações

Todas as amostras foram submetidas aos ensaios de Biodegradação, Microscopia Óptica, Espectroscopia na Região do Infravermelho por Transformada de Fourier (FTIR), Condutividade, Potencial Hidrogeniônico, Grau de intumescimento, Resistência a Tração e Termogravimetria.

#### 3.4.1 Biodegradação

O ensaio de biodegradação foi realizado para observar a degradação dos anéis durante os períodos de 1, 7, 14 e 21 dias.

Este ensaio terá como base a norma ASTM F1635-11 *Standard test Method for in vitro Degradation Testing of Hydrolytically Degradable Polymer Resins and Fabricated Forms for Surgical Implants* (2011).

As amostras em formato de anel foram secas e pesadas em balança digital antes e após a submissão do ensaio de biodegradação, para verificar a perda de massa das mesmas. Em seguida, as mesmas foram divididas em três grupos, um contendo a solução de PBS com concentração de 1mg/mL e controle pH próximo de 7, o segundo grupo a solução de PBS 1mg/mL com Lisozima na concentração de 1,5 µg/mL e pH próximo de 7, e o terceiro grupo será simulada a biodegradação ácida em solução de ácido láctico pH próximo de 4. O pH e a condutividade da solução

foram verificados tanto no início como no término do ensaio, para avaliação das possíveis variações do mesmo.

Cinco amostras foram feitas para cada tipo de anel, para os diferentes tipos de solução. O material foi em seguida incubado na estufa microbiológica, sob à temperatura de 37 °C, onde foram retiradas após 1, 7, 14 e 21 dias, seguido de um procedimento de lavagem em água destilada, secagem por 24 h em estufa a 50 °C e pesadas em balança analítica. Os resultados da biodegradação foram obtidos a partir da razão entre peso final (Mf) pelo peso inicial (Mi), como apresentando na Equação 1.

$$MR = \frac{Mi - Mf}{Mi} \times 100 \quad \text{Equação (1)}$$

Onde:

Mi: peso inicial da amostra.

Mf: peso da final amostra

MR: percentual de biodegradação

### **3.4.2 Microscopia Óptica (MO)**

A técnica por MO foi utilizada para avaliar a morfologia da superfície dos anéis, através do Microscópio Óptico Hirox de reflexão e transmissão, sendo este acoplado a uma estação de análise para as imagens produzidas. As imagens foram obtidas na magnificação de 200x.

### **3.4.3 Espectroscopia na Região do Infravermelho por Transformada de Fourier (FTIR)**

A análise do FTIR foi realizada no equipamento da Perkin Elmer Spectrum 400, onde foi utilizada uma faixa de varredura na região do infravermelho médio de 4000 a 400 cm<sup>-1</sup>. A técnica FTIR teve como objetivo a identificação das bandas características dos grupos funcionais presentes nas amostras, as interações entre os constituintes das amostras e as mudanças na estrutura química que surgiram

após o processo de biodegradação, através da utilização das faixas de varredura de 4000 a 650  $\text{cm}^{-1}$ .

#### 3.4.4 Condutividade

Os compostos orgânicos e inorgânicos contribuem ou interferem na condutividade, de acordo com sua concentração na amostra, e representam a facilidade ou dificuldade de passagem da eletricidade em uma determinada solução.

Para análise da condutividade das amostras utilizou-se um condutivímetro da marca MS Tecnopon Instrumentação em temperatura ambiente. O equipamento foi calibrado antes do procedimento.

#### 3.4.5 Avaliação do Potencial Hidrogeniônico (pH)

Para determinação de pH foi utilizado um pHmetro marca Micronal, modelo B 474, com eletrodo de vidro combinado com solução interna de cloreto de potássio (KCl) saturada com cloreto de prata (AgCl). O equipamento foi previamente calibrado com soluções tampão de pH 4,0 e 7,0. Foi realizada uma análise de pH direta em triplicata.

#### 3.4.6 Grau de Intumescimento

Este ensaio foi realizado com o objetivo de avaliar o intumescimento das amostras obtidas. As mesmas, inicialmente, foram secas, pesadas e mantidas em solução de soro fisiológico por 24h. Em seguida, foram retiradas da solução e colocadas sobre papel filtro para retirada do excesso da solução e pesadas em balança digital. O intumescimento de cada amostra foi calculado no tempo  $t$ , de acordo com a Equação 2.

Todas as amostras passaram por medições tanto antes como após o intumescimento para verificar o quanto o biomaterial aumentou de tamanho.

$$Gi = \frac{W_t - W_o}{W_o} \times 100$$

Equação (2)

Onde:

$W_t$ : é o peso da amostra no tempo  $t$

$W_o$ : é o peso inicial da amostra.

### 3.4.7 Resistência à Tração

O ensaio de tensão-deformação fornecerá uma indicação da resistência e também da tenacidade do material em teste. Os resultados do ensaio de tensão-deformação foram apresentados como tensão *versus* deformação. A tensão nominal ou de engenharia ( $\sigma_N$ ) é determinada pela divisão da carga aplicada ( $F$ ) pela área da seção transversal inicial do corpo de prova ( $A_o$ ). A deformação nominal ou de engenharia ( $\epsilon$ ) é obtida através da leitura do extensômetro, ou seja, a divisão da variação do comprimento de referência ( $\Delta L$ ) pelo comprimento de referência inicial,  $L_o$ , na qual representou a área útil do corpo de prova (Silva, 2012).

Este ensaio foi realizado por meio da Máquina Universal Instron, modelo 3366 célula de carga 500N, taxa de 50mm/min e teve como base as normas ASTM D638 e ASTM D638.

### 3.4.8 Termogravimetria (TGA)

Termogravimetria é uma técnica usada para medir a variação de massa de uma amostra em função da temperatura. A principal aplicação é a análise da decomposição e estabilidade térmica de materiais ao monitorar a variação de massa em função da temperatura em um modo de varredura ou como função do tempo em um modo isotérmico. A curva TG pode ser utilizada para quantificar a composição da amostra contendo componentes termicamente degradáveis.

A análise termogravimétrica (TGA) das amostras foi realizada em equipamento da marca Perkin Elmer modelo Pyris 1 TGA, com uma quantidade de material de aproximadamente 5,0 mg, as amostras foram pesadas em balança de precisão ( $\pm 0,1$ mg). O material foi aquecido a uma razão de aquecimento de  $10^\circ\text{C}/\text{min}$ , sob atmosfera de ar sintético com fluxo de  $50 \text{ mL min}^{-1}$ , utilizando cadinho de alumina. As curvas de TG foram registradas de 20 a  $200^\circ\text{C}$ , com a finalidade de verificar uma possível perda de massa em função da temperatura e verificar qual a técnica que pode ser utilizada para esterilizar o material para um possível contato com o corpo humano.

## 4 RESULTADOS E DISCUSSÃO

### 4.1 Biodegradação

No ensaio de biodegradação foram registradas as imagens das amostras (Figura 10), ilustrando os aspectos morfológicos durante as etapas de biodegradação após 1, 7, 15 e 21 dias. Após 15 dias as amostras AQ e AQF submetidas ao ensaio em meio ácido foram totalmente biodegradadas, enquanto que as amostras em PBS e PBS com lisozima demonstraram menor biodegradação. Em relação às diferenças na quantidade de massa final, nota-se que as amostras AQF apresentaram maior quantidade de massa ao final do ensaio, quando comparadas com as amostras AQ. Percebe-se também ao final de 7 dias mudanças na coloração das amostras AQ e AQF, através do escurecimento ocasionado pelo processo de biodegradação, que se acentua nas amostras submetidas ao ensaio em meio PBS e PBS com lisozima após 15 e 21 dias, isso ocorre porque na biodegradação são gerados radicais livres que possibilitam o desencadeamento do processo de oxidação (Matica, Menghiu e Ostafe, 2017).

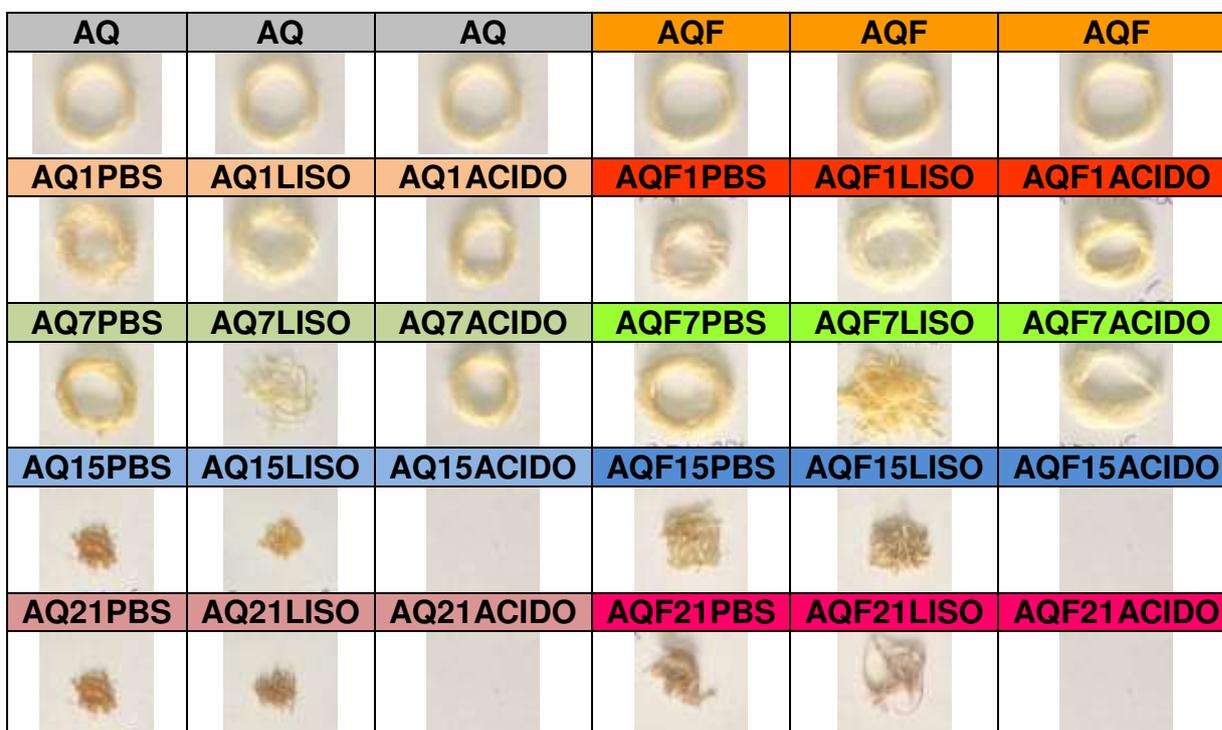


Figura 10 – Aspectos morfológicos das amostras submetidas ao ensaio de biodegradação durante 21 dias.

O processo biodegradação do polímero altera significativamente na estrutura química, propriedades físicas e morfológicas, sendo essa um produto da clivagem química das macromoléculas que forma a unidade polimérica. Essa degradação produz alterações nas características mecânicas, ópticas ou elétricas, descoloração e separação de fases. A taxa de biodegradação dos polímeros biodegradáveis é baixa quando submetidos a esse processo no ar ou na água em pH neutro, porém quando submetidos a uma catálise ácida, básica ou enzimática, tem-se um rápido processo de biodegradação (Laycock *et al.*, 2017; Pitt e Schindler, 2019).

A Figura 11 ilustra a perda mássica em função do tempo das amostras AQ submetidas ao ensaio de biodegradação em diferentes soluções. Nota-se que as amostras biodegradadas em meio ácido apresentaram 100% de perda ao longo dos 21 dias, quanto às amostras em PBS e PBS com lisozima observou-se um percentual de biodegradação de 72% e 81% respectivamente.

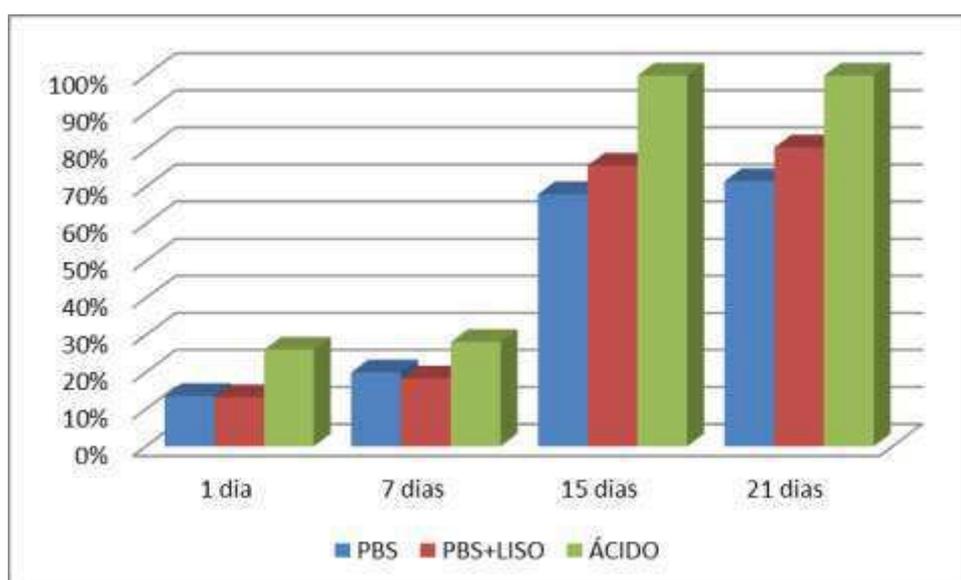


Figura 11 - Percentual de perda mássica das amostras AQ.

A biodegradabilidade dos biopolímeros é uma característica dependente da estrutura física e química do polímero, como também pela influencia de outros fatores inerentes ao meio como pH, temperatura, umidade, presença ou ausência de oxigênio, que influenciam também no potencial de ação da atividade enzimática. Quanto às características físicas e químicas do polímero e sua relação com a biodegradabilidade, pode se dizer que é mediada por diversas características como morfologia, grau de reticulação, pureza, difusividade, porosidade, reatividade

química, resistência mecânica e tolerância térmica, propriedades intrínsecas como a composição monomérica, presença de grupos carboxila ou hidroxila terminais, alinhamento de grupos e sua reticulação, peso molecular e sua distribuição, são importantes na determinação da cinética de degradação e podem influenciar nos mecanismos de biodegradação (Kumar e Maiti, 2016; Balaji *et al.*, 2017).

Propriedades como peso molecular e grau de desacetilação influenciam de forma significativa na biodegradabilidade da quitosana. A quitosana pode ser hidrolisada por enzimas que atuam na biodegradação por meio da quebra das ligações glicosídicas entre as unidades glucosamina-glucosamina, glucosamina- *N*-acetil-glucosamina e *N*-acetil-glucosamina- *N*-acetil-glucosamina. Além disso, vale salientar que condições em que esta é submetida, a exemplo do tipo de solução tampão, pH do meio de incubação, tipo e concentração da enzima, podem alterar a taxa de biodegradação do polímero. Quanto aos produtos da degradação, ou seja, os oligômeros (*N*-glucosamina) da quitosana liberados no processo e sua correlação com as repostas fisiológicas, os mesmos apresentam biotividade e podem atuar como probióticos que alteram positivamente, inibindo o crescimento de bactérias nocivas, aumentando a função imunológica e regeneração tecidual (Lončarević, Ivanković e Rogina, 2017).

Assim como nas amostras AQ, as amostras AQF (Figura 12) biodegradaram 100% em meio ácido após 21 dias de ensaio. Em contraste, as amostras submetidas ao ensaio de biodegradação em PBS e PBS com lisozima evidenciou um percentual abaixo do observado nas amostras AQ, com perdas de 48% e 61% respectivamente, mesmo após 21 dias de ensaio. Vale salientar que as amostras em PBS com lisozima demonstraram perfil de biodegradação superior às amostras em apenas PBS, comportamento esperado já que a enzima atua mais efetivamente na biodegradação da matriz de quitosana.

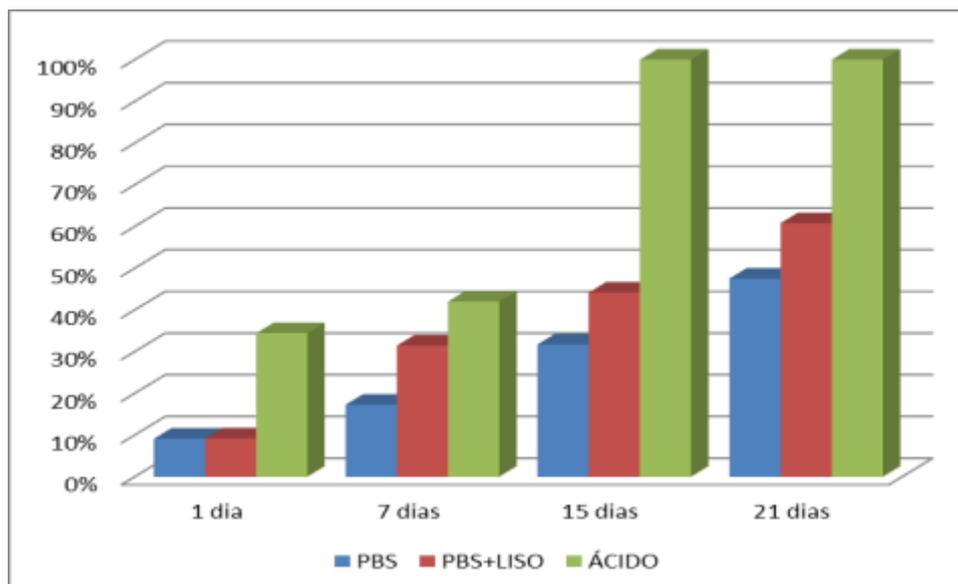


Figura 12 - Percentual de perda mássica das amostras AQF.

Quando comparado os resultados de biodegradação das amostras AQ e AQF durante 21 dias de ensaio, é possível verificar que as amostras com fármaco apresentaram menor tempo de biodegradação, o que nos permite inferir que a incorporação do promestrieno na matriz de quitosana possibilitou maior estabilidade às amostras quanto à degradação da matriz. Uma possível explicação para essa menor biodegradabilidade é a indisponibilidade de grupos polares na estrutura da quitosana, a exemplo do grupamento amina, que possivelmente pode ter interagido com o fármaco. De acordo com Sarvaiya e Agrawal (2015) a disponibilidade do grupo amina na estrutura da quitosana também influencia numa maior suscetibilidade da quitosana ao processo de biodegradação.

O estudo de biodegradação de fios de quitosana realizado por Cruz (2016) demonstrou uma perda mássica após 1 dia ensaio de aproximadamente 10% e 11% para os fios submetidos a biodegradação em PBS e PBS com lisozima, corroborando com os resultados obtidos nesse trabalho.

## 4.2 Microscopia Óptica (MO)

Na análise da morfologia das amostras AQ (Figura 13), observa-se uma superfície lisa, densa, translúcida, com forma característica proveniente da etapa de processamento. Nas amostras submetidas ao ensaio de PBS e PBS com lisozima foi possível realizar análise microscópica das amostras mesmo após 21 dias de ensaio,

no entanto, nas amostras submetidas ao ensaio em meio ácido não foi possível realizar o ensaio, tendo em vista que após 15 dias de ensaio as amostras foram totalmente biodegradadas. Após o processo de biodegradação, verificou-se o esgarçamento e a mudança na coloração das fibras, provavelmente devido ao processo de oxidação ocasionado pelo processo de biodegradação.

Resultados semelhantes para morfologia das fibras foram encontrados no estudo de Dobrovolskaya *et al.* (2015), Han *et al.* (2016) e Cremar *et al.* (2018). As fibras obtidas apresentaram superfície lisa e densa, sem a presença de poros com formato e orientação preferencial provenientes da forma de processamento utilizada.

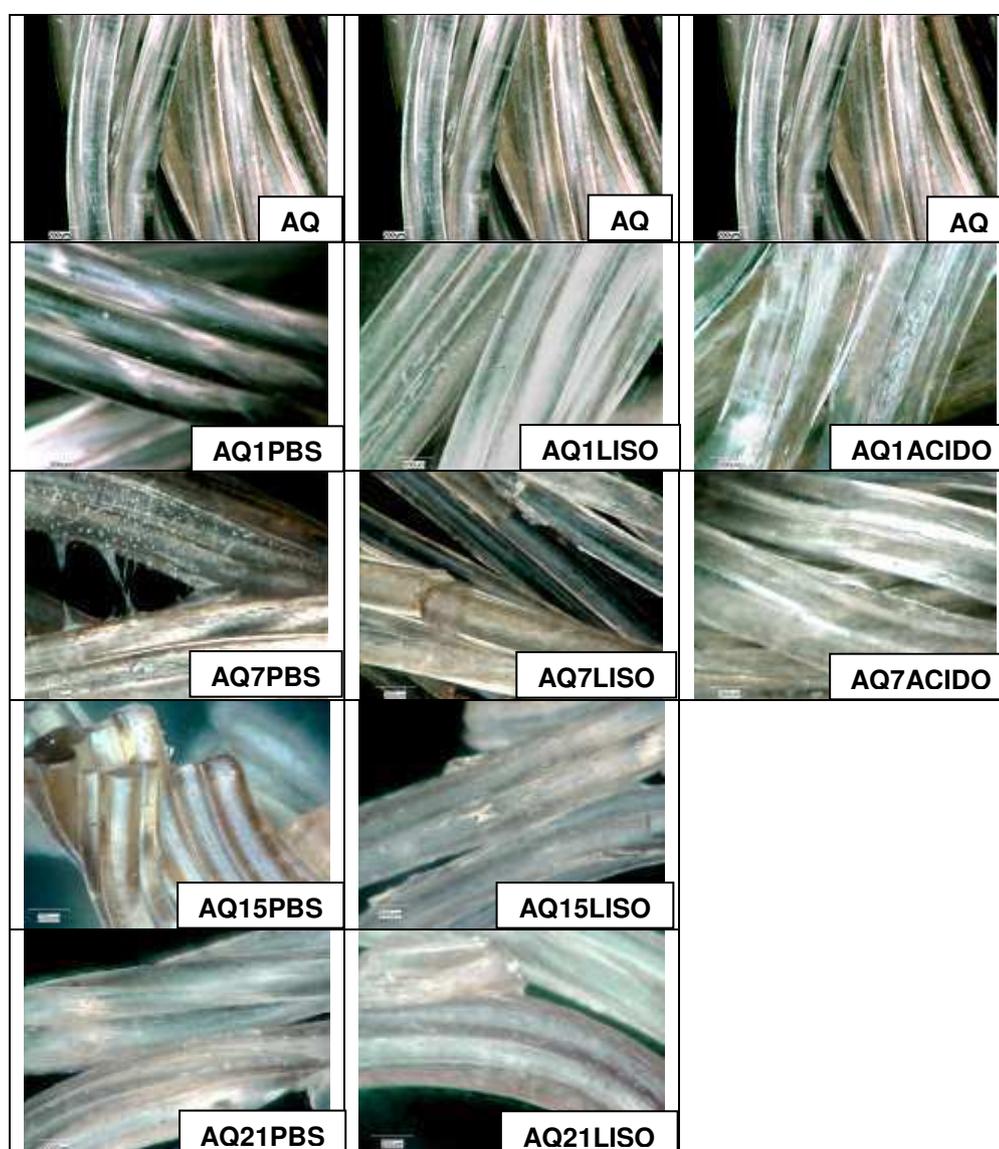


Figura 13 - Imagens de Microscopia Óptica da amostra AQ com magnificação de 200X.

Lucena (2017), na produção de tubos de quitosana, conseguiu resultados semelhantes aos deste trabalho na Microscopia Óptica das amostras, caracterizando as mesmas como densas.

De acordo com Reddy e Yang (2015) a morfologia e as propriedades dos fios obtidos por extrusão em solução coagulante pode variar dependendo do tipo de solução iônica utilizada na preparação da quitosana. Os autores observaram que fibras obtidas através de solução de cloreto de glicina apresentaram formato circular, com superfície lisa e propriedades mecânicas até três vezes melhores, em contraste as fibras obtidas em solução de ácido acético.

Nas amostras com fármaco (Figura 14) foram verificadas características diferentes na cor quando comparadas com as amostras sem fármaco (Figura 13), apresentando cor esbranquiçada, com superfície densa, lisa, com presença de partículas e formato com orientação preferencial característica proveniente das etapas de processamento.

Avaliação da morfologia ao longo de 21 dias de ensaio de biodegradação foi realizada apenas nas amostras AQFPBS e AQFLISO. As amostras AQFACIDO biodegradaram 100% após 15 dias de ensaio, impossibilitando a avaliação morfológica das fibras nos períodos de 15 e 21 dias de biodegradação.

As amostras submetidas ao ensaio de biodegradação em meio PBS apresentaram superfície lisa, densa e sem presença de poros mesmo após 21 dias de ensaio de biodegradação. Porém, nas amostras biodegradadas em PBS com lisozima verificou-se após 15 dias de ensaio um acúmulo na quantidade de partículas na superfície dos fios, o que nos permite inferir que tais partículas são provenientes da liberação do fármaco da matriz. Após 21 dias de ensaio nas amostras AQF21LISO percebeu-se a redução das partículas anteriormente citadas e, possivelmente ocorreu à liberação mais efetiva do fármaco.

Leite (2018) em seu estudo com fios de quitosana obteve resultados semelhantes na morfologia das amostras à deste trabalho, as quais apresentam aspecto uniforme e homogêneo sendo seu formato cilíndrico bem definido, com certa orientação preferencial, proveniente da força de estiramento durante o processo de extrusão.

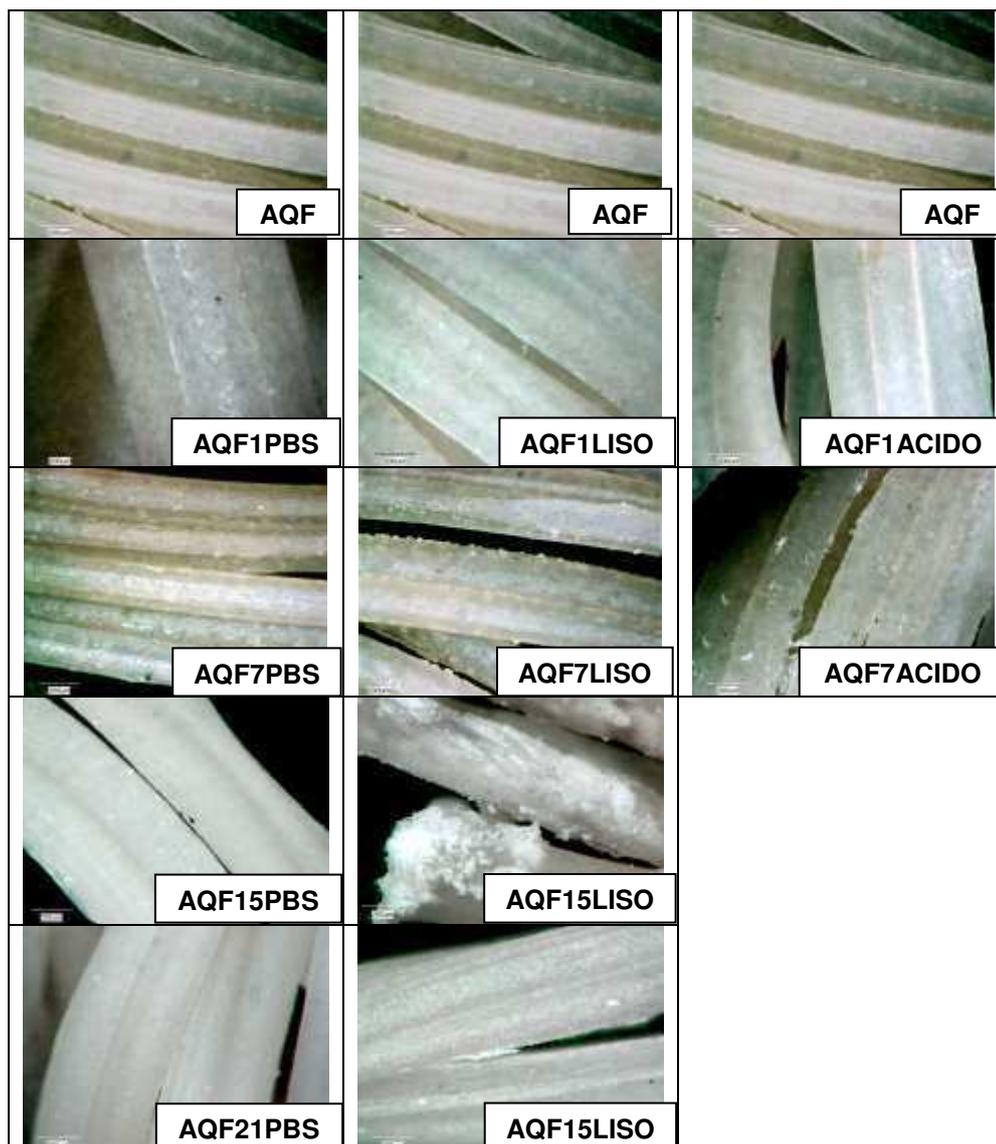


Figura 14 - Imagens de Microscopia Óptica da amostra AQF com magnificação de 200X.

Segundo Lu e colaboradores (2016) a liberação do fármaco em uma matriz polimérica biodegradável difere quanto aos mecanismos de liberação em matrizes poliméricas não biodegradáveis. Na matriz polimérica não biodegradável têm-se a difusão do fármaco com a entrada das moléculas de água na matriz, ocorrendo a passagem do fármaco pelas redes do polímero. No caso dos polímeros biodegradáveis o mecanismo de liberação se torna mais complicado e é determinado por fatores primordiais como: difusão, degradação e espessura da superfície. Inicialmente a liberação do fármaco em matrizes biodegradáveis ocorrem por pulso inicial, através da rápida difusão do medicamento na superfície da fibra. Em sequência sucede um longo período de liberação sustentada, sendo que a maior concentração de drogas está localizada na fase central da fibra polimérica. Portanto,

o mecanismo de liberação controlada de fármacos em fibras biodegradáveis ocorre pela difusão através da matriz polimérica e lenta degradação do polímero.

### 4.3 Espectroscopia na Região do Infravermelho por Transformada de Fourier (FTIR)

Na Figura 15 observa-se o espectro com as vibrações características do fármaco (Promestrieno). Na banda de  $2914 - 2850 \text{ cm}^{-1}$  nota-se vibração do tipo deformação axial de C-H de alifáticos. Em  $1740 \text{ cm}^{-1}$  são verificadas vibrações do tipo deformação axial do grupo C=O de ésteres e na região  $1470 \text{ cm}^{-1}$  e  $1370 \text{ cm}^{-1}$  deformação angular dos grupos  $\text{CH}_2$  e  $\text{CH}_3$ . Em  $1020 \text{ cm}^{-1}$  evidenciam-se vibrações do tipo deformação angular de éteres aromáticos e, na banda  $720 \text{ cm}^{-1}$  nota-se vibrações do tipo deformação angular de cadeia de  $-(\text{CH}_2)_n-$ .

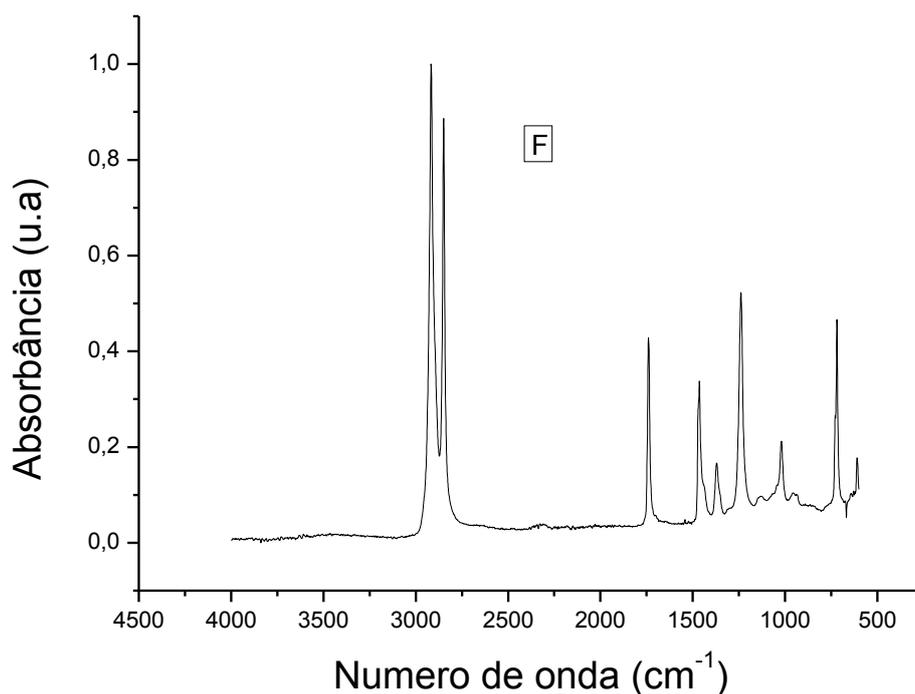


Figura 15 – FTIR do Promestrieno.

De acordo com Borah e Devi (2018), ao analisar o espectro no infravermelho do estradiol observaram vibrações de estiramento da cadeia lateral C-H nas bandas  $2919 \text{ cm}^{-1}$  e  $2873 \text{ cm}^{-1}$ , esses resultados corroboram os achados nessa pesquisa, tendo em vista que o promestrieno trata-se de um análogo do estradiol. Quanto às

vibrações do grupo C=O observadas no FTIR, acreditamos que esse grupo funcional faça parte de algum dos excipientes contidos no fármaco.

Os resultados comparativos entre as amostras AQ e AQF (Figura 16) revelam que a introdução do fármaco na matriz intensificou a banda vibrações  $2919\text{ cm}^{-1}$  do estiramento da cadeia lateral C-H, reduziu as bandas em  $3200\text{ cm}^{-1}$  referente ao estiramento OH, em  $1636$  e  $1586\text{ cm}^{-1}$  referente à deformação axial do grupo C=O de amidas e deformação angular de  $\text{NH}_2$  e na região de  $1470\text{-}1308\text{ cm}^{-1}$  correspondente à deformação angular no plano da ligação O-H e à deformação axial de C-O. Percebe-se também um aparecimento de uma nova banda em  $1748\text{ cm}^{-1}$ , possivelmente relacionada à deformação axial do grupo C=O de ésteres. As reduções das vibrações observadas no FTIR sugerem uma possível ligação do fármaco nos respectivos grupos funcionais descritos anteriormente, além disso, a intensificação de algumas bandas características do fármaco reforça a ideia de que houve a incorporação do mesmo na matriz de quitosana. O promestrieno por se tratar de uma molécula de característica anfipática, sua capacidade de interação com os grupos reativos da quitosana é mais significativa, uma vez que pode interagir com diferentes grupos da cadeia.

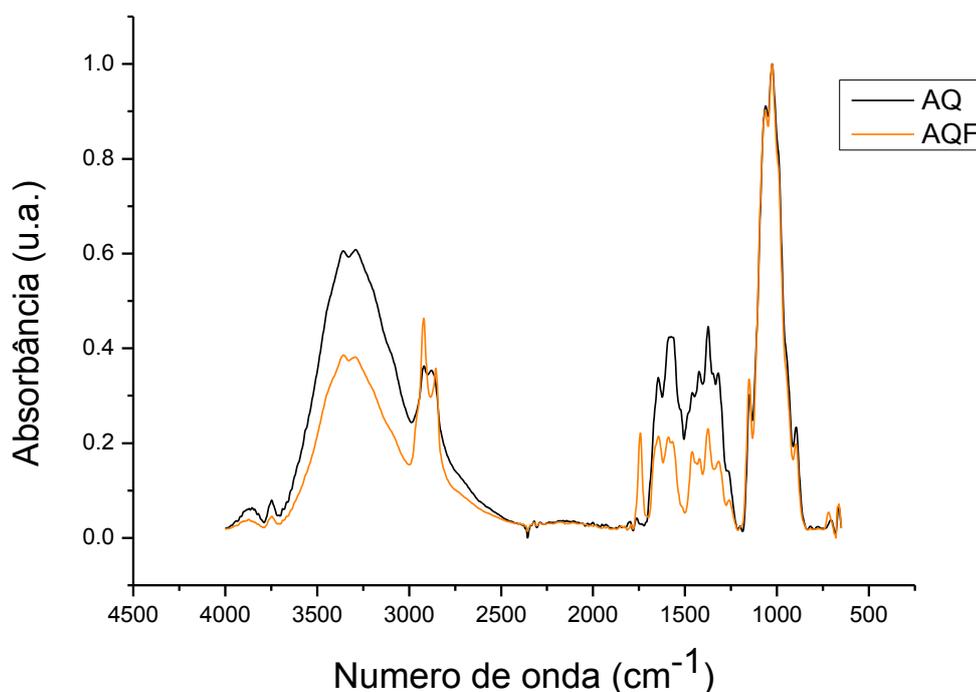


Figura 16 – FTIR da amostra AQ e AQF.

Em consonância com os resultados obtidos nesse trabalho, nos resultados de FTIR do estudo de Sousa e colaboradores (2018) na produção de um anel de quitosana/gelatina/promestrieno, verificou o surgimento de uma banda em torno de  $1748\text{ cm}^{-1}$ , a qual atribui à deformação axial do grupo C=O de aldeídos, no entanto, acreditamos que essa deformação ocorra no grupo C=O de ésteres.

No FTIR das amostras sem fármaco (Figura 17) submetidas ao ensaio de biodegradação em PBS ao longo de 7 dias, foi possível observar variações acentuadas nos espectros, com o aumento das bandas de absorção correspondentes ao estiramento OH em  $3300\text{ cm}^{-1}$ , no estiramento da cadeia lateral C-H referente a banda  $2930\text{ cm}^{-1}$  e em  $1646\text{ cm}^{-1}$  referente à deformação axial do grupo C=O de amidas. Esse aumento vibracional pode caracterizar a desestabilização da matriz polimérica, o que permitiu o aumento na intensidade das vibrações de alguns grupos da matriz. Após 15 e 21 dias de ensaio ocorreu uma redução da intensidade das bandas anteriormente supracitadas, provavelmente devido à degradação da matriz polimérica.

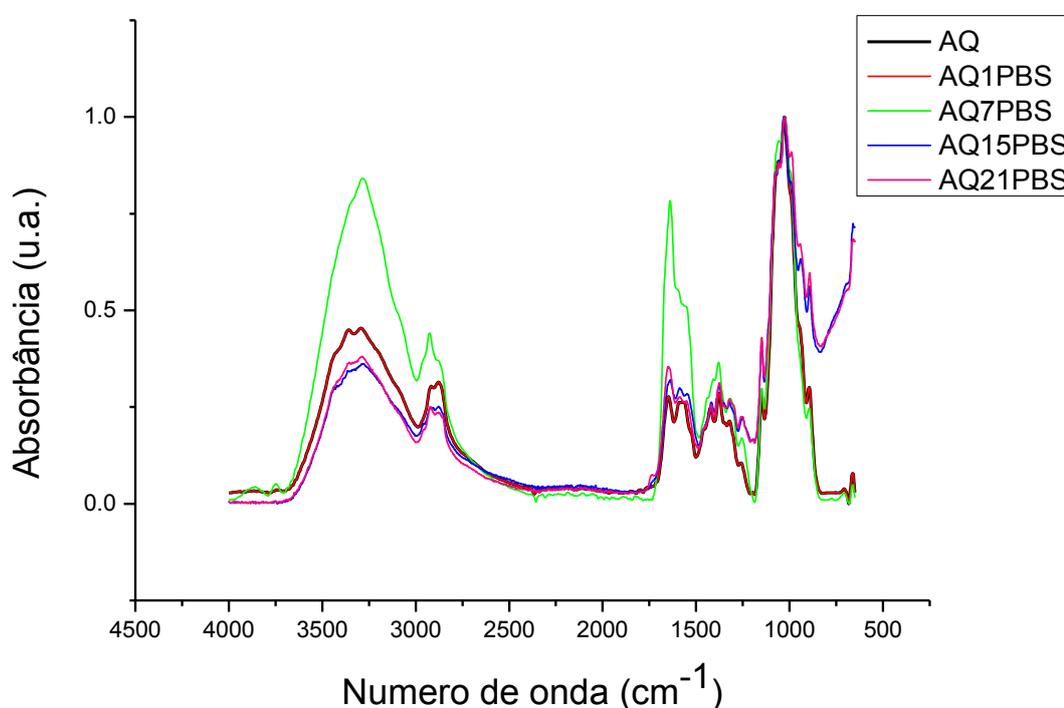


Figura 17 – FTIR da amostra AQ submetida ao ensaio de biodegradação em PBS.

Já para as amostras AQ submetidas ao ensaio de biodegradação durante 21 dias em PBS com lisozima, o espectro (Figura 18) apresentou mudanças

relacionadas à redução de todas as bandas características ao final do ensaio de biodegradação, entretanto, nota-se uma mudança sutil no espectro das amostras submetidas a 7 dias de ensaio, por meio do aumento nas bandas OH em  $3300\text{ cm}^{-1}$  e em  $1646\text{ cm}^{-1}$  referente à deformação axial do grupo C=O de amidas. Após 21 dias de ensaio observa-se que houve um efetivo processo de biodegradação da matriz pela redução da intensidade vibracional dos grupos funcionais da amostra.

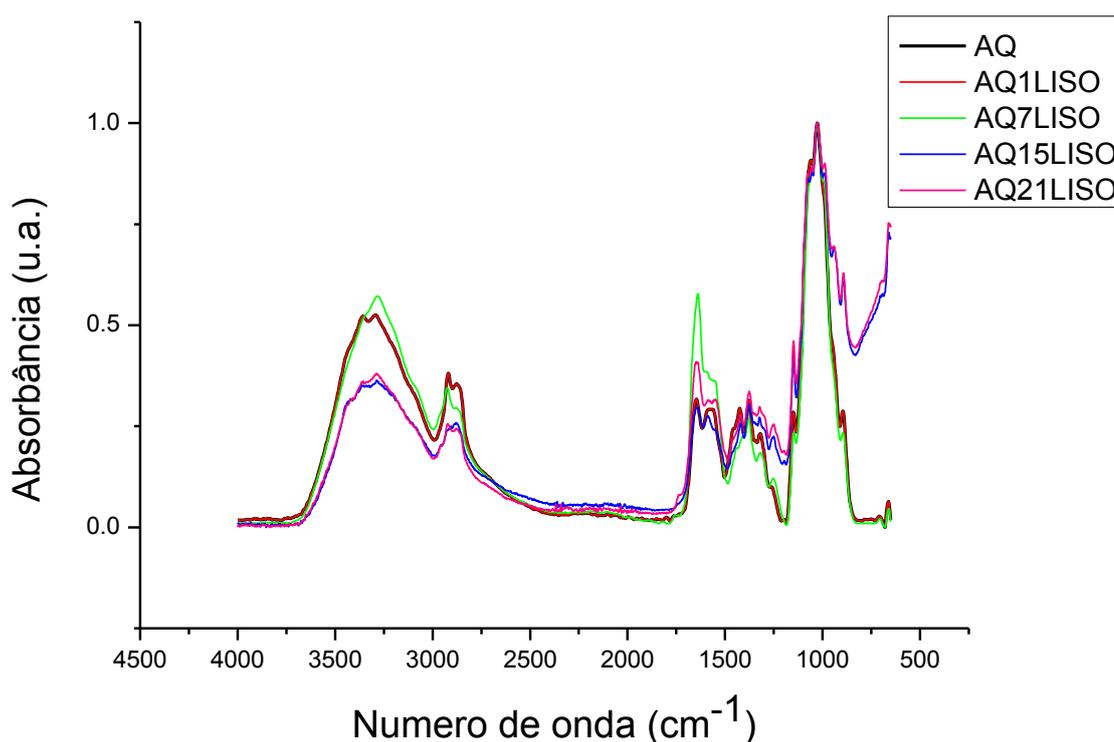


Figura 18 – FTIR da amostra AQ submetida ao ensaio de biodegradação em PBS com lisozima.

O resultado de FTIR obtido através do espectro da Figura 19, para as amostras sem fármaco submetidas ao ensaio de biodegradação num período de 7 dias em Ácido Lático, notou-se redução no valor da absorbância de todas as bandas características observadas nas amostras. Esse resultado sugere que possivelmente ocorreu maior degradação da matriz polimérica, devido à redução nas vibrações de todos os grupos característicos da amostra. Outro ponto a ser destacado é que diferentemente das amostras submetidas ao ensaio de biodegradação em PBS e PBS com lisozima, onde se observou duas etapas distintas no processo de biodegradação, a primeira sendo caracterizada pela desestabilização da matriz polimérica e sequencialmente a degradação da matriz, as amostras submetidas ao

ensaio em meio ácido apresentaram apenas uma etapa descrita pela degradação efetiva da matriz. Ademais, é importante destacar que não foi possível realizar o FTIR das amostras no período de 15 e 21 dias, pois as amostras foram totalmente biodegradadas após 15 dias de ensaio.

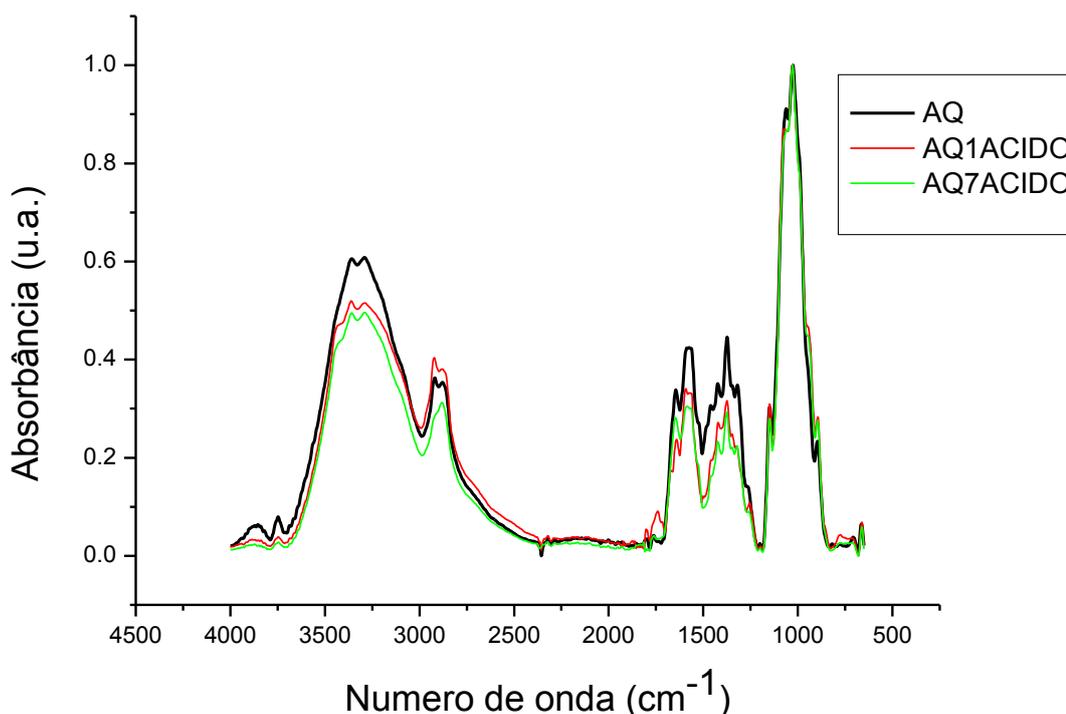


Figura 19 – FTIR da amostra AQ submetida ao ensaio de biodegradação em Ácido Lático por 7 dias.

Diante dos resultados é possível notar que as mudanças sofridas nas amostras após os 7 dias de ensaio de biodegradação nos diferentes meios, quando analisados os diferentes espectros nas Figuras 17, 18 e 19, ocorrem principalmente nos grupos funcionais associados às bandas  $3300\text{ cm}^{-1}$ ,  $2930\text{ cm}^{-1}$ ,  $1646\text{ cm}^{-1}$  e  $1586\text{ cm}^{-1}$ .

As etapas associadas ao processo de biodegradação foram descritas por Matica, Menghiu e Ostafe (2017) e dividida em três etapas básicas: primeira etapa caracterizada pela despolimerização pela clivagem das ligações  $\beta$ -1,4-glicosídica; segunda etapa pela desacetilação da quitosana em função da hidrólise da ligação N-acetil e; por último a clivagem dos grupamentos amino, carbonil, amido e hidroxil da cadeia, a depender das condições químicas e enzimáticas. Nesse processo são gerados radicais livres que podem levar a processos de oxidação.

A Figura 20 ilustra o espectro de FTIR das amostras com fármaco submetidas ao ensaio de biodegradação em PBS durante 21 dias. No espectro das amostras após 7 dias de ensaio, observa-se intensificação das bandas  $3300\text{ cm}^{-1}$ ,  $2930\text{ cm}^{-1}$ ,  $1646\text{ cm}^{-1}$  e  $1586\text{ cm}^{-1}$ , referentes ao estiramento OH, estiramento da cadeia lateral C-H, deformação axial do grupo C=O de amidas e deformação angular de  $\text{NH}_2$  respectivamente. O aumento nas vibrações sugere uma possível liberação do fármaco, no entanto, nota-se que se manteve a estabilidade da matriz polimérica. Após 21 dias há mudanças no espectro evidenciadas pela redução de todas as bandas, possivelmente devido à degradação da matriz polimérica.

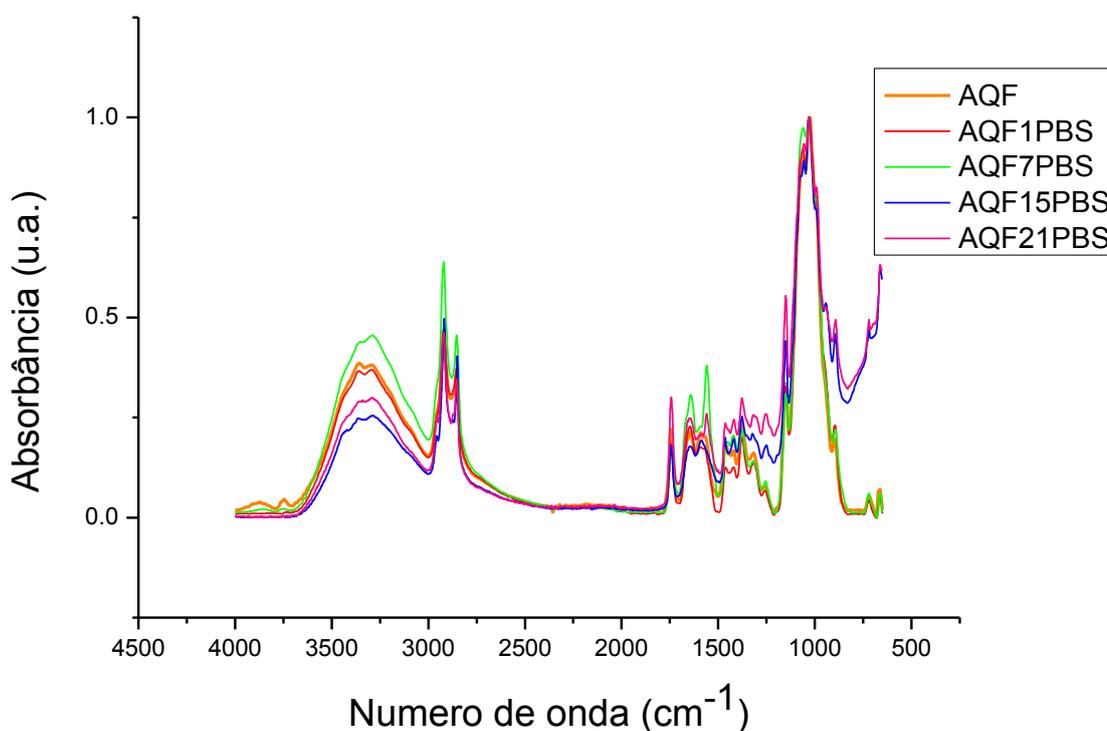


Figura 20 – FTIR da amostra AQP submetida ao ensaio de biodegradação em PBS.

Resultados semelhantes foram observados no FTIR das amostras com fármaco submetidas ao ensaio de biodegradação em PBS com lisozima (Figura 21) quando correlacionado aos espectros das amostras submetidas ao ensaio em apenas PBS (Figura 20), onde se notou intensificação das bandas  $2930\text{ cm}^{-1}$  referente ao estiramento C-H e  $1586\text{ cm}^{-1}$  correspondente a deformação angular de  $\text{NH}_2$ . Esse perfil corrobora com a hipótese de maior estabilidade na matriz conferida pela ligação do fármaco em alguns grupos característicos da quitosana, além de

denota que após 21 dias de ensaio houve a liberação do fármaco e posteriormente a biodegradação da estrutura da quitosana.

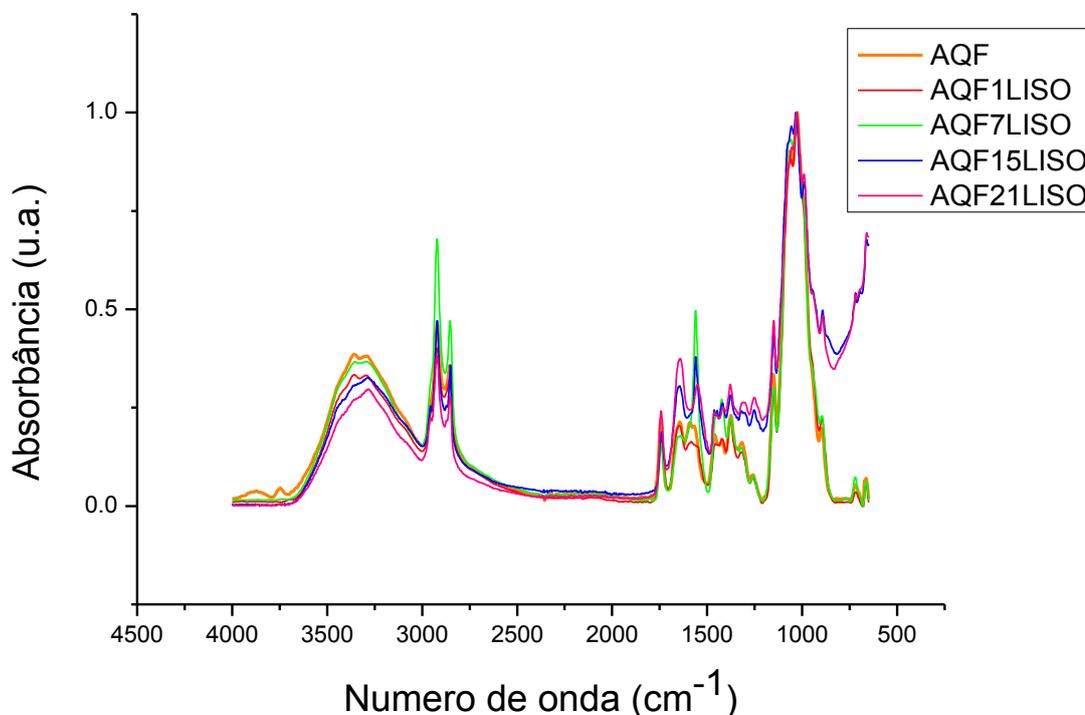


Figura 21 – FTIR da amostra AQF submetida ao ensaio de biodegradação em PBS com lisozima por 21 dias.

Nas amostras com fármaco submetidas ao ensaio de biodegradação em ácido láctico durante 7 dias, no espectro das amostras (Figura 22) após 1 dia houve intensificação das bandas em 3300 cm<sup>-1</sup> referente ao estiramento OH, 1568 cm<sup>-1</sup> que corresponde à deformação angular de NH<sub>2</sub> e em 1370 cm<sup>-1</sup> deformação axial da ligação C-O e, ao final de 7 dias ocorreu a intensificação da banda 2930 cm<sup>-1</sup> do estiramento C-H. Não foi possível realizar as análises de 15 e 21 dias, pois ao final de 15 dias as amostras AQF submetidas ao ensaio de biodegradação em ácido láctico foram totalmente biodegradadas, como foi visto também para as amostras AQ submetidas ao mesmo meio de solução.

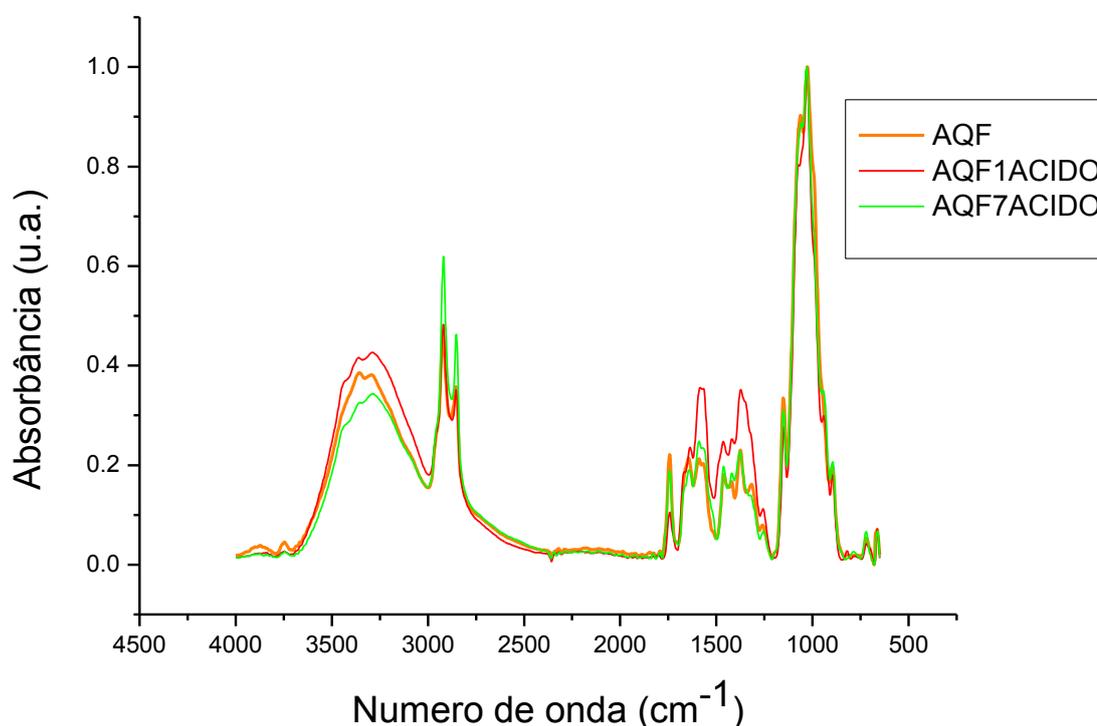


Figura 22 – FTIR da amostra AQF submetida ao ensaio de biodegradação em Ácido Lático por 21 dias.

Comparando com os resultados de biodegradação das amostras AQ e AQF e correlacionando com o estudo de Mengatto e colaboradores (2013), é possível que a incorporação do fármaco na matriz, o qual se trata de um análogo do estradiol, tenha conferido maior estabilidade devido à natureza química da sua composição e das ligações iônicas com a matriz polimérica, possibilitando a reticulação e diminuição da hidrofiliabilidade, refletindo assim também no processo de biodegradabilidade das amostras.

#### 4.4 Condutividade

A condutividade é a expressão quantitativa da capacidade de uma solução eletrolítica transportar corrente elétrica, sendo que essa depende da carga, massa, raio hidrodinâmico do íon e da velocidade de migração e transporte de íons que a solução possui. Deste modo, soluções que apresentam grandes concentrações de íons apresentam maior condutividade.

A condutividade da amostra AQ ao longo de 21 dias demonstrou duas etapas distintas. A primeira etapa ao longo de 7 dias verificou-se maior condutividade em PBS e PBS com lisozima (Figura 23), diferentemente das amostras em ácido, isso se justifica por se tratar de uma solução salina com grande concentração de íons, uma vez que essa concentração é diretamente proporcional ao aumento da condutividade elétrica. Na segunda etapa após 15 e 21 dias, observa-se a redução da condutividade, mais evidenciada nas amostras em PBS e PBS com lisozima. As interações dos grupos hidroxila/amino da quitosana e o emparelhamento de íons podem influenciar no aumento ou na redução da condutividade, a exemplo dos grupos glucosamina positivamente carregados ( $\text{NH}_3^+$ ), que podem interagir com cargas negativas (Tanner, Ibsen e Mitragotri, 2017; Madian, El-Hossainy e Khalil, 2018).

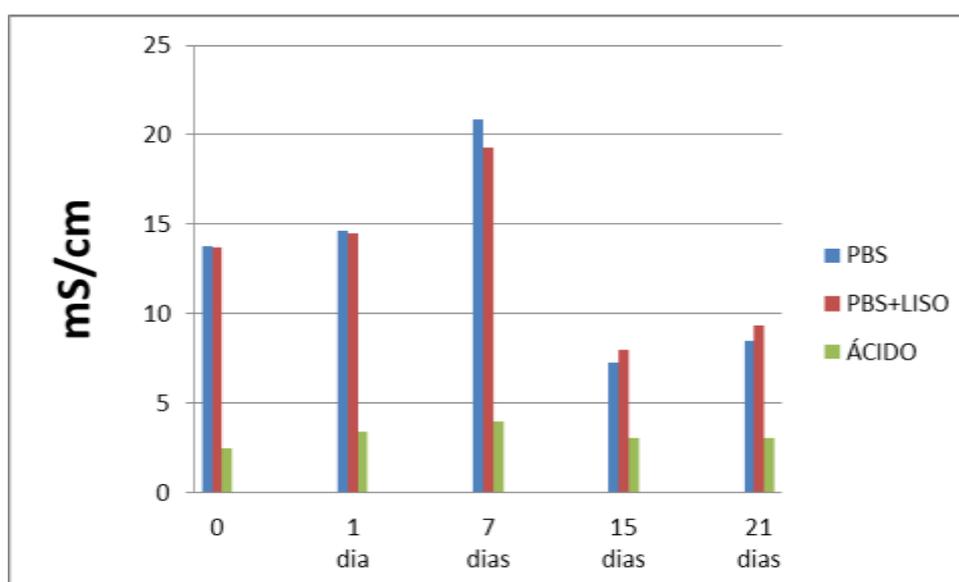


Figura 23 - Condutividade das amostras AQ.

As amostras AQF (Figura 24) apresentaram perfil semelhante ao da condutividade das amostras AQ (Figura 23) com duas etapas distintas, porém nota-se que após 15 e 21 dias foram observados dos fenômenos diferentes.

Acerca da primeira etapa, o que se esperava era que as amostras com fármaco demonstrassem maior condutividade quando correlacionado com o ensaio de biodegradação para as amostras sem fármaco, pois nestas observou-se maior biodegradação, conseqüentemente maior número de íons pela dissociação de algumas moléculas, entretanto, há de se considerar o tamanho da partícula e

massa. Quando se avalia a condutividade, é possível que às partículas liberadas pelas amostras com fármaco tenham apresentado maior massa e tamanho, em contraste às partículas liberadas pelo anel sem fármaco, e por esse motivo a condutividade da amostra AQF apresentou menor condutividade, quando comparadas com a amostra AQ após 7 dias.

Na segunda etapa após 15 dias houve redução da condutividade das amostras em PBS e PBS com lisozima, seguindo de aumento da condutividade após 21 dias, sendo essa mais significativa nas amostras submetidas ao ensaio em PBS. Esse aumento na condutividade após 21 dias pode caracterizar-se como a liberação final do fármaco e por isso esse contraste em relação às medições após 15 dias de ensaio.

De acordo com Gehrke e colaboradores (2017) a condutividade é mediada por dois processos que refletem no aumento e na redução desta. O primeiro caracterizado pela difusão de íons, que está atrelado ao aumento da condutividade. No segundo processo, a redução na condutividade pode ser atribuída ao aumento da densidade de íons, emparelhamento dos íons e o grau de empacotamento das moléculas.

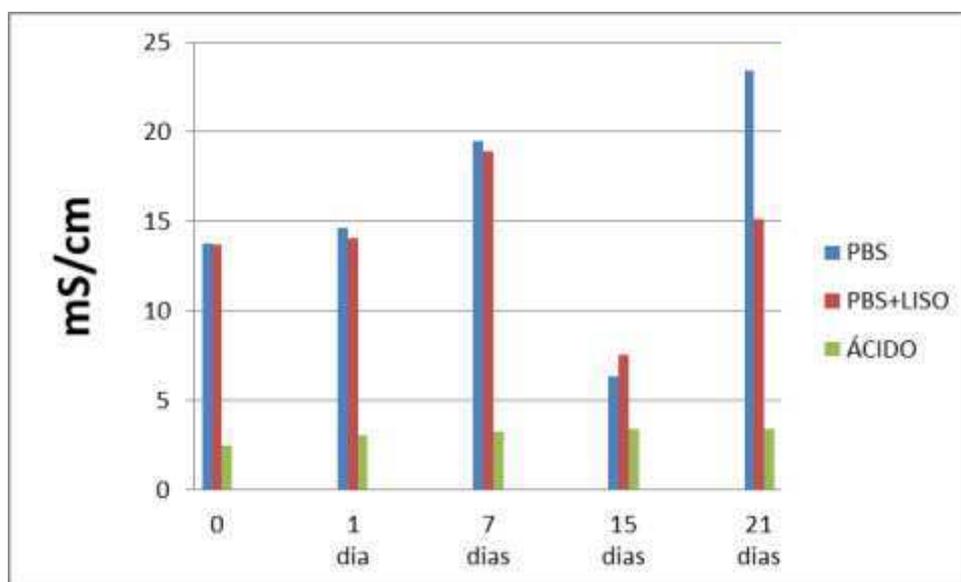


Figura 24 - Condutividade das amostras AQF.

A condutividade varia com a concentração total de substâncias ionizadas dissolvidas na água, temperatura, mobilidade dos íons, valência dos íons e as concentrações real e relativa de cada íon. Medidas de condutividade em tecidos

biológicos vivos podem ser utilizadas para modelar sistemas (Paulson, Pidcock e Mcleod, 2004).

Os biomateriais obtidos apresentaram condutividade que variou em decorrer do tempo e um material polimérico que vai servir como tecido artificial precisa ser sensível a variações de potenciais eletrônicos e responder a estes. Por isso ele deve ter uma condutividade compatível com a função que desempenhará (Pattavarakorn *et al.*, 2013).

Do ponto de vista de estimulação fisiológica dos tecidos, Baniyadi Ahmad e Mashayekhan (2015) relata que apenas amostras com condutividade superior a 1,0 mS/cm podem ser consideradas adequadas para fins de estimulação elétrica, deste modo, as amostras deste trabalho apresenta-se na faixa estabelecida pela literatura, mesmo após o período a que se propõe a aplicação.

#### 4.5 Avaliação do Potencial Hidrogeniônico (pH)

No ensaio de avaliação do potencial hidrogeniônico (Figura 25 e 26) foram feitas as medições do pH das soluções utilizadas antes do ensaio, com o intuito de se observar a mudança de pH durante análise de biodegradação. Tanto para as amostras AQ, quanto para as AQF. O pH da solução ácida apresentou significativo contraste em relação ao início e final do ensaio, saindo da faixa de pH ácido para neutro. Já para as amostras submetidas ao ensaio em PBS e PBS com lisozima, o pH variou na faixa de 6-9 até o final do ensaio.

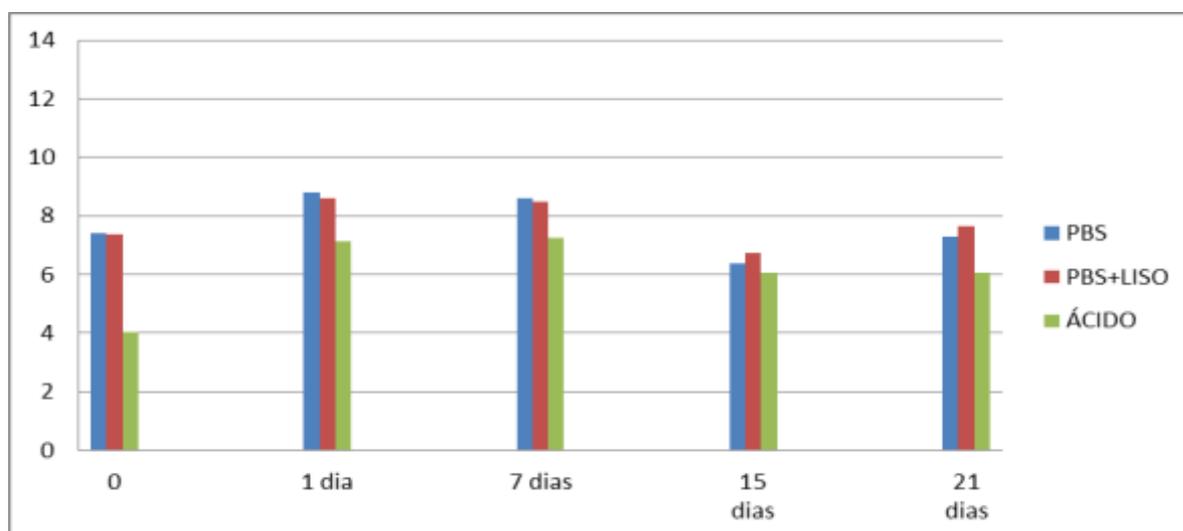


Figura 25 - Potencial Hidrogeniônico das amostras AQ.

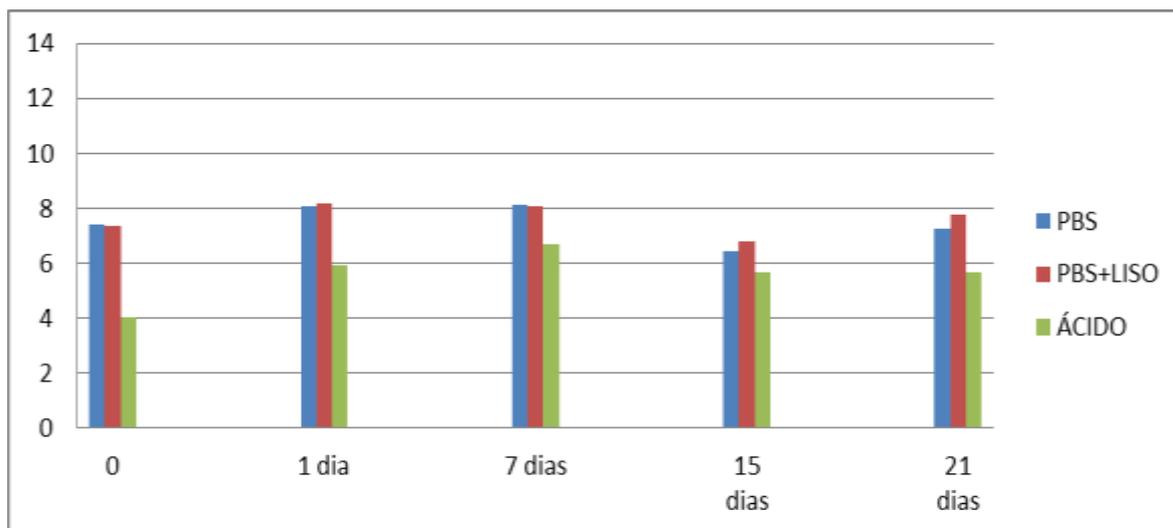


Figura 26 - Potencial Hidrogeniônico das amostras AQP.

A quitosana é um polímero com alcalinidade fraca e os produtos da sua biodegradação, ou seja, os oligômeros liberados na quebra das ligações das cadeias, podem até certo ponto aumentar o pH da solução, deste modo, possibilitando as variações observadas neste trabalho (Wan *et al.*, 2015).

De acordo com Kalliola *et al.* (2017) as variações no pH referentes à biodegradação da quitosana estão relacionadas à protonação e desprotonação dos grupos  $\text{NH}_3^+$  e  $\text{COO}^-$ .

Segundo Lončarević, Ivanković e Rogina (2017) o aumento no pH é em consequência da dissolução da quitosana no meio. Por apresentar caráter policatiônico, o polímero é solúvel em ácido, os grupamentos amina neutralizam o íon hidrogênio pela dissociação no meio. Sendo assim, na dissolução da quitosana, seus grupos atuam como base, aumentando o valor do pH.

#### 4.6 Grau de Intumescimento

A capacidade de uma amostra absorver certa quantidade de líquidos é denominada de grau de intumescimento, sendo essa definida como a razão entre a massa da amostra intumescida e massa da amostra seca. Essa capacidade é influenciada por diversos fatores que podem aumentar ou reduzir esse grau de intumescimento dependendo das propriedades físico-químicas das amostras. Entre as características que pode alterar essa capacidade estão à presença de grupos polares como  $\text{NH}_2$ ,  $\text{OH}$ ,  $\text{COOH}$  e  $\text{CONH}_2$ , que proporcionam maior hidrofiliabilidade;

presença de grupos apolares que aumentam a hidrofobicidade e; grau de polimerização e ligações cruzadas na cadeia da amostra (Freitas, 2016).

A Figura 27 ilustra o grau de intumescimento das amostras AQ e AQF. As amostras sem fármaco apresentaram maior capacidade de absorção, quando comparadas às amostras AQF, isso se deve ao fato de que nas amostras AQF a adição do fármaco ocasionou na redução dessa capacidade, possivelmente pela redução na disponibilidade dos grupos polares da quitosana após a interação com o fármaco.

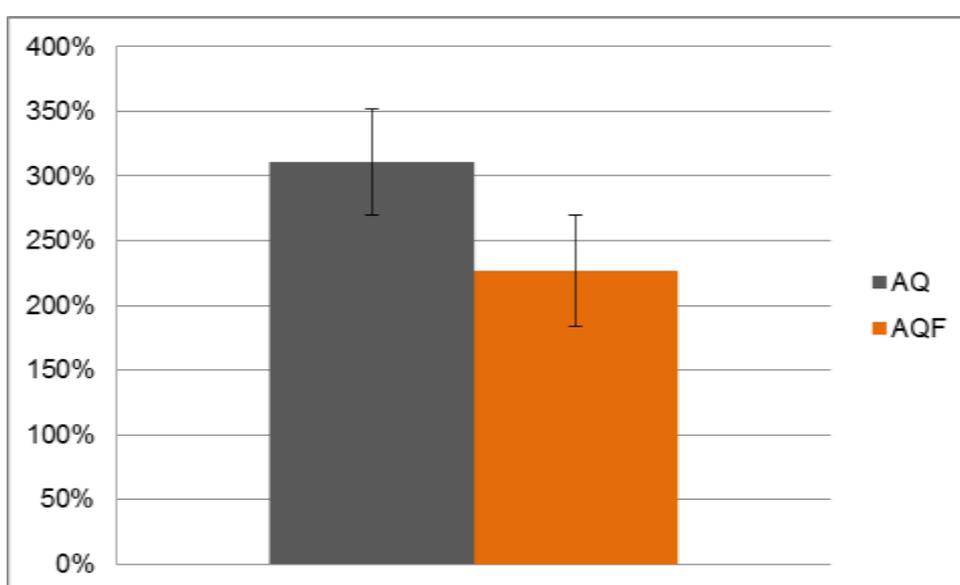


Figura 27 - Grau de intumescimento das amostras.

De acordo com Valente e colaboradores (2019) o grau de intumescimento das fibras de quitosana varia em torno de 200-500%. Sua capacidade de intumescimento depende do tipo e das formas em que se encontra a quitosana, do peso molecular, do grau de desacetilação, da natureza específica, a qual é altamente polar e do seu comportamento polieletrólítico em solução, características essas que possibilitam a formação de complexos estáveis entre a quitosana e as moléculas de água.

Mendes *et. al.* (2016) verificou que adição de fosfolipídios na estrutura dos fios de quitosana reduziu a capacidade de intumescimento destes. Esse comportamento é consequência das interações entre os grupos característicos dos fosfolipídios e da quitosana, possivelmente pela diminuição de grupos polares disponíveis na estrutura da quitosana e aumento dos grupos apolares presentes nos fosfolipídios.

#### 4.7 Resistência à Tração

A análise de resistência à tração, observado na Tabela 4, ilustra os valores médios dos módulos de elasticidade, tensão e deformação dos materiais ensaiados.

Tabela 4 – Resistência à tração dos anéis.

<b>Amostras</b>	<b>Deformação Máxima (%)</b>	<b>Tensão (MPa)</b>
<b>AC</b>	753,04	10,89
<b>AA</b>	20,87	0,15
<b>AQ</b>	247,22	11,49
<b>AQF</b>	279,14	11,53

Observa-se que a amostra comercial (AC) apresenta uma maior deformação quando comparada com o anel sem as adequações na metodologia anterior (AA) desenvolvida por Souza e colaboradores (2018). É possível verificar também que apesar de se manter com valores abaixo do comercial, o anel confeccionado nesta tese obtido por meio de fios trançados de quitosana e quitosana fármaco (AQ e AQF), possibilitou uma melhoria significativa no valor da deformação máxima e superior tensão de ruptura, após o ajuste do método. Além disso, nota-se um leve aumento com a adição do fármaco possibilitando melhorias nas propriedades mecânicas. Diante disso, o uso da técnica de tecelagem na formação da estrutura do anel demonstrou ser eficaz no ajuste dos parâmetros supracitados.

João e colaboradores (2017) enfatizam que embora os materiais à base de quitosana apresentem grande número de aplicações industriais em diferentes áreas, frequentemente estes demonstram propriedades mecânicas inferiores quando comparados a materiais poliméricos produzidos a partir de polímeros sintéticos.

Silva (2017), ao analisar a tensão de ruptura dos filmes de quitosana em seu estudo, observou um valor de 2,4 MPa, esse resultado foi inferior ao encontrado nesse trabalho, entretanto isso pode ser explicado pelo método de processamento e pela adição do plastificante nos anéis, parâmetros esses que influenciam nas propriedades mecânicas dos mesmos. Segundo Fiori e colaboradores (2014), a adição de plastificante em filmes de quitosana influencia na redução tensão de ruptura dos fios filmes.

## 4.8 Termogravimetria (TGA)

A análise termogravimétrica pode fornecer o conhecimento composicional de algumas classes de materiais. No caso dos polímeros orgânicos, onde a matriz é decomposta completamente por aquecimento, o perfil de perda fornece informações adicionais sobre a matriz polimérica, como a presença ou ausências de cargas inorgânicas no material (Charsley *et al.*, 2019).

A Figura 28 ilustra os termogramas das amostras com e sem fármaco, onde se observa a perda de massa das amostras em função da temperatura. Comparativamente, é possível verificar que as amostras AQ apresentaram percentual de decomposição térmica inferior às amostras AQF na faixa de temperatura utilizada na análise, denotando um percentual de 13,41% de perda ao final do processo. Apesar de ser um contraste pequeno, representado por apenas 0,56% de diferença em relação às amostras AQ, pode-se concluir que a amostra com fármaco (AQF) apresenta maior sensibilidade às variações de umidade e por isso demonstrou maior perda de massa. A degradação até a faixa de 200 °C pode ser entendida como a perda de água da fibra e por isso apresentou apenas um estágio linear de decomposição do material.

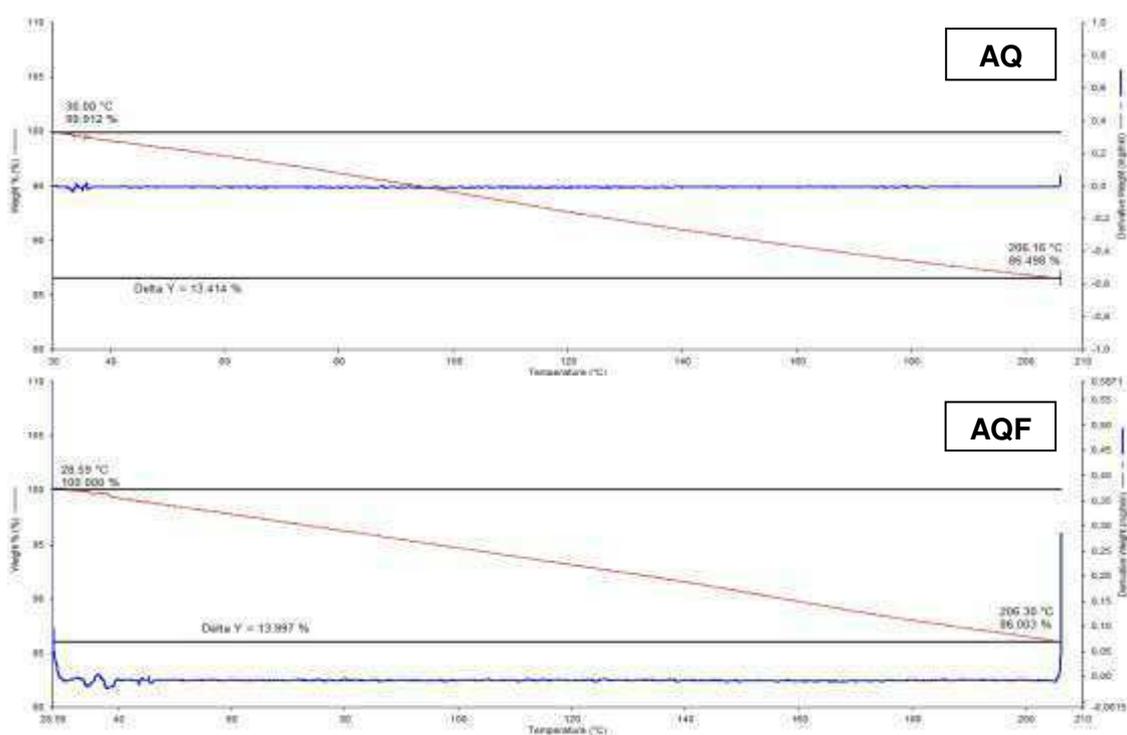


Figura 28 - Termogramas das amostras AQ e AQF.

Yu *et al.* (2019) observaram nas análises de termogramas de fios de quitosana três estágios de decomposição térmica, utilizando uma faixa de temperatura de 30-900°C. O primeiro estágio correspondente à perda de água nas amostras até 200°C. No segundo estágio, iniciando-se em 260°C caracterizado pela decomposição da cadeia molecular da quitosana. O terceiro estágio ocorreu entre 565 e 900°C, até a degradação total da fibra e formação das cinzas do material.

Ziegler-Borowska e colaboradores (2016) e Loganathan e colaboradores (2017), relatam que a decomposição térmica da quitosana pode ser explicada em duas etapas distintas. A primeira etapa referente à liberação de água adsorvida entre 20-150°C, devido à alta capacidade de absorção da umidade exibida pela quitosana. Na segunda etapa é descrita a degradação da estrutura polimérica pela abertura do anel e abstração dos grupos laterais na faixa de temperatura entre 200-500°C.

## 5 CONCLUSÃO

A morfologia das amostras apresentou características descritas na literatura ratificando a eficiência do método empregado, além disso, foi possível obter um material em formato de anel, tendo em vista a finalidade de utilização deste.

Os ensaios físico-químicos confirmaram que ocorreu a incorporação do fármaco o qual possibilitou maior estabilidade na matriz polimérica, corroborando com os resultados observados na biodegradação, grau de intumescimento e resistência à tração.

Os dados obtidos nos ensaios de biodegradação, condutividade e avaliação do potencial hidrogeniônico, permitiram estimar o tempo e processos atrelados a degradação da matriz e liberação do fármaco.

De modo geral, os anéis apresentam potencialidade como terapêutica de reposição de estrogênio, no entanto, é necessária a realização de outros ensaios que confirmem o uso do dispositivo na liberação controlada de promestrieno.

## **6 SUGESTÕES PARA TRABALHOS FUTUROS**

- Realizar o ensaio de liberação controlada do fármaco, a fim de verificar a cinética e o tempo de liberação;
- Avaliar o tempo de biodegradação por até três meses;
- Fazer estudos pré-clínicos dos anéis para avaliar a efetividade dos mesmos.

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ACCORSI, L. A. S.; HAIDAR, M. A.; SIMOES, R. S.; ACCORSI NETO, A. C.; MOSQUETTE, R.; SOARES JUNIOR, J. M.; BARACAT, E. C. Efeitos da isoflanovas sobre o assoalho pélvico e a vascularização peri-uretral de mulheres na pós-menopausa. **Rev. Bras. Ginecol Obstet.** v. 28, n. 9, p. 545-550, 2006.

ALBERNAZ, A. P. Hormônios: Da prescrição médica à terapia individualizada. **Amostra de Artigos PUC-Goiás**, 2012.

ALEXANDER, N. J.; BAKER, E.; KAPTEIN, M.; KARCK, U.; MILLER, L.; ZAMPAGLIONE, E. Why consider vaginal drug administration?. **Fertility and Sterility**, v. 82, n. 1, p. 1-12, 2004.

ALMEIDA, A. A. B., et al. Influências do climatério na atividade sexual feminina. **Revista da Rede de Enfermagem do Nordeste**, v. 17, n. 3, p. 422-426, 2016.

ALMODOVAR, A. J. O., et al. Promestriene Affects GREB1 Expression in Estrogen Sensitive Breast Cancer Cells. **Journal of Cancer Therapy**, v. 6, n. 9, p. 767, 2015.

AM, P. N., et al. **Climacteric And Sexuality [climatério E Sexualidade]**. 2013.

AMARAL, P. P. Intervenção da fisioterapia uroginecológica no tratamento coadjuvante do vaginismo. **Revista Visão Universitária**, v. 2, n.1, 2017.

ANNIL, M.; RANU, P.; VARUN, G. Menopause and Cardiovascular Disease. **J Midlife Health**. v.10, n. 2, p. 55–56, 2019.

ANVISA. Antrofi: **Promestrieno**. MS 100431093. 2015.

ASTM D638-10 Standard: **Standard test method for tensile properties of plastics. American Society for Testing and Materials.**American Society for Testing Materials, West Conshohocken, Pennsylvania, Estados Unidos, 2010.

BADER, R. A.; PUTNAM, D. A. **Engineering Polymer Systems for Improved Drug Delivery**. Wiley. New Jersey. 2014.

BALAJI, A. B., et al. Natural and synthetic biocompatible and biodegradable polymers. Biodegradable and biocompatible polymer composites: processing, properties and applications. Woodhead Publishing series in composites science and engineering. **Duxford: Woodhead Publishing**, p. 3-32, 2017.

BALTAZAR, P.; BARROS, F. **Manual de Medicina Sexual Visão Multidisciplinar: Anatomia Sexual Feminina**. Rute Figueiredo. Editora HSJ, p. 583, 2014.

BANIASADI, H.; AHMAD, R.; MASHAYEKHAN, S. Fabricação e caracterização de andaimes condutores à base de quitosana / gelatina para engenharia de tecidos nervosos. **Revista internacional de macromoléculas biológicas**, v. 74, p. 360-366, 2015.

BARACHO, E. **Fisioterapia Aplicada à Obstetrícia, Uroginecologia e Aspectos de Mastologia**. 4. ed. Rio de Janeiro: Editora Guanabara, 2007.

BATISTA, J. G. S. **Desenvolvimento de matrizes poliméricas biodegradáveis à base de quitosana e possíveis blendas como sistemas de liberação controlada de fármacos**. 2015. 109 f. Tese (Doutorado) apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciências na Universidade de São Paulo.

BATTISTI, M. V.; CAMPANA-FILHO, S. P. Obtenção e caracterização de  $\alpha$ -quitina e quitosanas de cascas de *Macrobrachium rosenbergii*. **Química Nova**, São Paulo, v. 31, n. 8, 2008.

BERNARDES, A. Anatomia cirúrgica do aparelho genital feminino. **Manual de Ginecologia**. Permanyer Portugal, 2011.

BEZERRA, T. A., et al. Terapia de reposição hormonal na menopausa. **Revista de Iniciação Científica e Extensão**, v. 2, n. 4, p. 247-249, 2019.

BORAH, M. M.; DEVI, TH. G. The vibrational spectroscopic studies and molecular property analysis of Estradiol, Tamoxifen and their interaction by density functional theory. **Journal of Molecular Structure**, v. 1163, p. 205-220, 2018.

BOTELHO, M. A.; QUEIROZ, D. B.; CARVALHO, C. F.; FREITAS, A.; BARROS, G.; PATRUS, L.; BANNET, M.; ARAUJO-FILHO, I.; SILVA, I. Efeitos de nanoemulsão transdérmica dosimetrada de testosterona em mulheres peri- e pós-menopausa: Um novo protocolo para o tratamento de libido reduzido. **Medical Expresse (Online)**. v. 2, n. 5, 2015.

BRUCK, S. D. Entrega Controlada de Medicamentos: Conceitos Básicos do Volume 1. **CRC Press**, 2019.

CHARSLEY, E., et al. Principles of thermal analysis and calorimetry. **Royal society of chemistry**, 2019.

CHATSIPIOIOS, D.; SCHMIDTS-WINKLER, I. M.; KÖNIG, L.; MASUR, C.; ABELS, C. Tratamento tópico da secura vaginal com creme não hormonal em mulheres submetidas ao tratamento do câncer de mama - Um estudo prospectivo multicêntrico aberto. **PloS** um , v. 14, n. 1, p. e0210967, 2019.

CLAPAUCH, R.; ATHAYDE, A.; MEIRELLES, R. M. R; WEISS, R. V.; PARDINI, D. P.; LEÃO, L. M. C. S. M.; MARINHEIRO, L. P. F. Terapia Hormonal da Menopausa: Posicionamento do Departamento de Endocrinologia Feminina e Andrologia da SBEM em 2004. **Arq Bras Endocrinol Metab**, v. 49, n. 3, 2005.

COOK, M. T.; BROWN, M. B. Polymeric gels for intravaginal drug delivery. **Journal of controlled release**, v. 270, p. 145-157, 2018.

CORLETA, H. V.E.; KALIL, H. S. B. **Menopausa e Climatério**. Disponível em: <http://www.abcdasaude.com.br/artigo.php?284>. Acesso em: 10 de agosto de 2018.

CREMAR, L., et al. Development of antimicrobial chitosan based nanofiber dressings for wound healing applications. **Nanomedicine Journal**, v. 5, n. 1, p. 6-14, 2018.

CREPALDI, E. A. **Influência do fator de cobertura nas propriedades de permeabilidade de tecidos planos**. 2017. 91 f. Tese (Doutorado) apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Têxtil e Moda da Universidade de São Paulo.

CRUZ, R. C. A. L. **Produção de fibras de quitosana pela técnica de fiação úmida para aplicação como biomaterial**. 2016. 93 f. Tese apresentada ao programa de Pós-Graduação em Ciência e Engenharia de Materiais da Universidade Federal de Campina Grande.

DE GRAAFF, W.; VERHOEVEN, W. J. H. **Intravaginal ring drug delivery system**. U.S. Patent No 10,413,504, 2019.

DEL VALLE, E. M. M.; GALÁN, M. A.; CARBONELL, R.G. Drug delivery technologies: The way forward in the new decade. **Industrial and Engineering Chemistry Research**. v. 48, n. 5, p. 2475-2486, 2009.

DEL PUP, L., POSTRUZNIK, D.; CORONA, G. Effect of one-month treatment with vaginal promestriene on serum estrone sulfate levels in cancer patients: A pilot study. **Maturitas**, v. 72, n. 1, p.93-94, 2012.

DEVLIN, B., et al. **Combination therapy intravaginal rings**. U.S. Patent No 10,137,031, 2018.

DOBROVOLSKAYA, I. P., et al. In vivo studies of chitosan fiber resorption. **J. Appl. Cosmetol**, v. 33, p. 81-87, 2015.

FARO, L.; RUSSO, J. A. Testosterona, desejo sexual e conflito de interesse: periódicos biomédicos com espaços privilegiados de expansão no mercado de medicamentos. **Horiz. Antropol**. v. 23, n. 43, 2017.

FERREIRA, I. C. C.; SILVA, S. S.; ALMEIDA, R. S. Menopausa, sinais e sintomas e seus aspectos psicológicos em mulheres sem uso de reposição hormonal. **Ensaio Cienc., Cienc. Biol. Agrar. Saúde**, v.19, n.2, p. 60-64, 2015.

FIORI, A. P. S. M.; GUABIRABA, G. P.; PRAXEDES, A. P. P.; NUNES, M. R. S. BALLIANO, T. L.; SILVA, R. C.; TONHOLO, J.; RIBEIRO, A. S. Preparação e Caracterização de Nanocompósitos Poliméricos Baseados em Quitosana e Argilo Minerais. **Polímeros**, v. 24, n. 5, p. 628-635, 2014.

FRANK, L. A.; SANDRI, G.; D'AUTILIA, F.; CONTRI, R. V.; BONFERONI, M. C.; CAMELLA, C.; FRANK, A. G.; POHLMANN, A. R.; GUTERRES, S. S. Chitosan gel containing polymeric nanocapsules: a new formulation for vaginal drug delivery. **Int J Nanomedicine**, v. 28, n. 9, p. 3151-3161, 2014.

FREITAS, J. S. **Fotodegradação de hidrogél de poliacrilamida na presença de íon para uso na agricultura**. 2016. 78 p. Dissertação (Mestrado) apresentada ao

programa de Pós-Graduação em Saneamento Ambiental da Universidade federal de Lavras.

GEHRKE, S., et al. Structure and lifetimes in ionic liquids and their mixtures. **Faraday discussions**, v. 206, p. 219-245, 2017.

GOMES, M.; AZEVEDO, H.; MALAFAYA, P.; SILVA, S.; OLIVEIRA, J.; SILVA, G.; MANO, R. S. J.; REIS, R. **Em Natural Polymers in Tissue Engineering Applications; Ebnesaajad, S., eds.** Elsevier: Kidlington, 2013, caps. 16.

HAALAND, R.; HOLDER, A.; EVANS-STRICKFADEN, T.; NYAGOL, B.; MAKANGA, M.; OYARO, B.; HUMWA, F.; WILLIAMS, T.; MCLELLAN-LEMAL, E.; DESAI, M.; HUEY, M. Residual hormone levels in used contraceptive rings as a measurement of adherence to vaginal ring use. **Contraception**, v. 95, n. 6, p.602-604, 2017.

HAN, T., et al. Spinning Process of Chitosan Fiber with Low Concentration of Formic Acid Solution and its Characteristics. **Journal of Modern Materials**, v. 1, n. 1, p. 24-34, 2016.

HENSCHER, U. **Fisioterapia em ginecologia**. Editora: Santos. 2007.

HOLM, E.; AALTONEN, K.; HEIKKINEN, A.; TIIHONEN, M. From systemic hormone therapy to vaginal estrogen – A nationwide register study in Finland, 2003–2012. **Maturitas**, v. 78, n. 4, p.293-297, 2014.

HORST, W.; SILVA, J. C. Prolapsos de órgãos pélvicos: revisando a literatura. **Arquivos Catarinenses de Medicina**, v. 45, n. 2, p. 91-101, 2016.

HU, Y.; YANG, Y.; NING, Y.; WANG, C.; TONG, Z. Facile preparation of artemisia argyi oil-loaded antibacterial microcapsules by hydroxyapatite-stabilized pickering emulsion templating. **Colloids and Surfaces B: Biointerfaces**, v. 112, p. 96–102, 2013.

JAYAKUMA, R. **Novel Chitin and Chitosan Materials in Wound Dressing**. Disponível em: [http://www.intechopen.com/source/pdfs/12794/InTech-Novel\\_chitin\\_and\\_chitosan\\_materials\\_in\\_wound\\_dressing.pdf](http://www.intechopen.com/source/pdfs/12794/InTech-Novel_chitin_and_chitosan_materials_in_wound_dressing.pdf). Acesso em 10 de julho de 2018.

JIANG, T.; et al. Targeted oral delivery of BmpB vaccine using porous PLGA microparticles coated with M cell homing peptide-coupled chitosan. **Biomaterials**. v. 35, p. 2635-2373, 2014.

JOÃO, C. F. C.; ECHEVERRIA, C.; VELHINHO, A.; SILVA, J. C.; GODINHO, M. H.; BORGES, J. P. Bio-inspired production of chitosan/chitin films from liquid crystalline suspension. **Carbohydrate Polymers**, v.155, p. 372-381, 2017.

KALLIOLA, S., et al. The pH sensitive properties of carboxymethyl chitosan nanoparticles cross-linked with calcium ions. **Colloids and Surfaces B: Biointerfaces**, v.153, p. 229-236, 2017.

KUMAR, S.; MAITI, P. Controlled biodegradation of polymers using nanoparticles and its application. **Rsc Advances**, v. 6, n. 72, p. 67449-67480, 2016.

KYDONIEUS, A. F. Tratado sobre administração controlada de medicamentos: aplicações de otimização de fundamentos . **Routledge**, 2017.

LAGE, G. C. **Efeitos da terapêutica com estrogênios na incontinência urinária**. 2013. 26 f. Dissertação (Mestrado) apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Medicina do Instituto de Ciências Biomédicas Abel Salazar, Universidade do Porto.

LAYCOCK, B., et al. Lifetime prediction of biodegradable polymers. **Progress in Polymer Science**, v. 71, p. 144-189, 2017.

LEITE, C. E. D. V. et al. Fios de quitosana e glicerol para aplicação como fio de sutura. **Revista Campo do Saber**, v. 4.4, 2018.

LIMA, C. S. A.; MAGALHÃES, L. G.; MENDOZA, L. E. R.; COSTA, S. M.; COSTA, S. A. Resíduo da pesca como potencial negócio na área têxtil. **Anais do Congresso Internacional de Negócios da Moda**, p. 1- 6, 2017.

LOGANATHAN, S., et al. Thermogravimetric analysis for characterization of nanomaterials. **In: Thermal and Rheological Measurement Techniques for Nanomaterials Characterization**. Elsevier, p. 67-108, 2017.

LONČAREVIĆ, A.; IVANKOVIĆ, M.; ROGINA, A. Lysozyme-induced degradation of chitosan: the characterisation of degraded chitosan scaffolds. **Journal of Tissue Repair and Regeneration**, v. 1, n. 1, p. 12, 2017.

LU, Y., et al. Coaxial electrospun fibers: applications in drug delivery and tissue engineering. **Wiley Interdisciplinary Reviews: Nanomedicine and Nanobiotechnology**, v. 8, n. 5, p. 654-677, 2016.

LUCENA, B. M. **Dispositivos tubulares de quitosana obtidos pelo método de dip-coating para utilização como biomateriais**. 2017. 73 f. Dissertação (Mestrado) apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciência e Engenharia de Materiais da Universidade Federal de Campina Grande.

LUK, B. T.; ZHANG, L. Cell membrane-camouflaged nanoparticles for drug delivery. **Journal of controlled release**, v. 220, p. 600-607, 2015.

MADIAN, N. G.; EL-HOSSAINY, M.; KHALIL, W. A. Improvement of the physical properties of chitosan by  $\gamma$ -ray degradation for wound healing. **Results in Physics**, v. 11, p. 951-955, 2018.

MAIA, M.; ROZA, T.; MASCARENHAS, T. Female athlete pelvic floor–urogynecological overview O pavimento pélvico da mulher atleta–perspectiva uroginecológica. **Acta Obstet Ginecol Port**, v. 9, n.1, p. 56-64, 2015.

MAGDALENA, B. G.; JOLANTA, B.; KUBA, P.; RYSZARD, P. High Physical Activity Level May Reduce Menopausal Symptoms **Medicina**. v. 55, p. 466, 2019.

MATICA, A.; MENGHIU, G.; OSTAFE, V. Biodegradability of Chitosan Based Products. **New Frontiers in Chemistry**, v. 26, p. 75-86, 2017.

MENDES, A. C., et al. Hybrid electrospun chitosan-phospholipids nanofibers for transdermal drug delivery. **International journal of pharmaceutics**, v. 510, n.1 p. 48-56, 2016.

MENGATTO, L., et al. Hydrophilic and hydrophobic interactions in cross-linked chitosan membranes. **Materials Chemistry and Physics**, v. 139, n. 1, p. 181-186, 2013.

MORADI, F.; SADATMAHALLEH, S. J.; ZIAEI, S. The effect of hormone replacement therapy on cognitive function in postmenopausal women: An RCT. **Int J Reprod Biomed (Yazd)**. 2019

MORENO, A. L. **Fisioterapia em Uroginecologia**. 2. ed. São Paulo: Manole, 2009.

National Center for Biotechnology Information. PubChem Database. IUWKNLFTJBHTSD-QIKJAYGVSA-N, CID=71717, <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/71717> , acesso em 16 de julho de 2018.

NAVE, R. Development of an intravaginal ring delivering simultaneously anastrozole and levonorgestrel: a pharmacokinetic perspective. **Drug delivery**, v. 26, n. 1, p. 586-594, 2019.

NEELAM, J.; REETI, M.; POONAM, G.; CHAVAN, B. S. Sexual Health of Postmenopausal Women in North India. **J Midlife Health**. v. 10, n. 2, p. 70–74, 2019.

NEVES, J.; BAHIA, M.F. Gels as vaginal drug delivery systems, Review. **International Journal of Pharmaceutics**, v. 318, n. 1-2, p. 1-14, 2006.

NOVAES, A. R. V.; SOUZA, C. B.; ZNDONADE, E.; AMORIM, M. H. C. Revisão integrativa: a acupuntura no tratamento da ansiedade e estresse em mulheres com câncer de mama. **JMPHC| Journal of Management & Primary Health Care| ISSN 2179-6750**, v. 8, n. 2, p. 141-162, 2017.

NUVARING, 2018. Disponível em: [www.anvisa.gov.br/datavisa/fila\\_bula/frmVisualizarBula.asp?pNuTransacao](http://www.anvisa.gov.br/datavisa/fila_bula/frmVisualizarBula.asp?pNuTransacao). Acesso em 25 de agosto 2018.

NWE, N.; FURUIKE, T.; TAMURA, H. The Mechanical and Biological Properties of Chitosan Scaffolds. **Materials**. v. 2, p. 374-398, 2009.

OLIVEIRA, B. M.; COSTA, L. P. L. Influência dos hormônios sexuais na qualidade de vida em mulheres no climatério. **Revista Ciência & Saberes-Facema**, v. 1, n. 1, p. 99-104, 2015.

OLIVEIRA, A. G.; SCARPA, M. V.; CORREA, M. A.; CERA, L. F. R.; FORMARIZ, T. P. Microemulsões: estrutura e aplicações como sistema de liberação de fármacos. **Química Nova**. v. 27, n. 1, p. 131-138, 2004.

OLIVEIRA, J.; PERUCH, M. H.; GONÇALVES, S.; HAAS, P. Padrão hormonal feminino: Menopausa e terapia de reposição. **Revista Brasileira de Análise Clínicas**. v. 3, n. 48, 2016.

OLIVEIRA, A.; ALMEIDA, C.; BASTOS, E.; SANTOS, J. C.; SOUZA, K. C.; BRUNO, S.; ROCHA, T.; MENDES, R. B. **Sexualidade das mulheres no climatério e na menopausa**. 2010.

OMODEI, M. S. **O impacto do assoalho pélvico sobre a função sexual em mulheres na pós-menopausa**. 2019. 89 f. Dissertação apresentada à Faculdade de Medicina de Botucatu, Universidade Estadual Paulista.

ORÉFICE, R.; PEREIRA, M. M.; MANSUR, H. S. **Biomateriais: Fundamentos e Aplicações**. Rio de Janeiro: Cultura Médica, 2012.

PANAZZOLO, D. et al. Efeitos da terapia hormonal da menopausa sobre a gordura corporal. **Revista Hospital Universitário Pedro Ernesto**, v. 13, n. 1, 2014.

PARDINI, D. Terapia de reposição hormonal na menopausa. **Arq Bras Endocrinol Metab**, 2014.

PARK, J.; LAKES, R. S. **Biomaterials: an Introduction**. 3th Edition. New York: Springer. p. 561, 2007.

PATTAVARAKORN, D.; YOUNGTA, P.; JAESRICHAJ, S.; THONGBOR, S.; CHAIMONGKOL, P. Electroactive Performances of Conductive Polythiophene/hydrogel Hybrid Artificial Muscle. **Energy Procedia**. v.34, p. 673 – 681, 2013.

PAULSON, K. S.; PIDCOCK, M. K.; MCLEOD, C. N. A probe for organ impedance measurement. **IEEE Transactions On Biomedical Engineering**, n. 51(10), p. 1838–1844, 2004.

PEZZINI, B. R.; SILVA, M. A. S.; FERRAZ, H. G. Formas farmacêuticas sólidas orais de liberação prolongada: sistemas monolíticos e multiparticulados. **Revista Brasileira de Ciências Farmacêuticas. Brazilian Journal of Pharmaceutical Sciences**. v. 43, n. 4, p. 491-502, 2007.

PINHAT, E. C. **Estudo comparativo de cremes estrogênicos em pacientes com prolapso genital**. 2017. 69 f. Dissertação (Mestrado) apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Tocoginecologia da Universidade Federal do Paraná.

PIRES, A. L. R.; BIERHALZ, A. C. K.; MORAES, A. M. Biomateriais: tipos, aplicações e mercado. **Quim. Nova**, v. 38, n. 7, p. 957-971, 2015.

PIRES, J. R., et al. Os hormônios sexuais, a mulher e o periodonto. **Anais - USP**, 2018.

PITT, C. G.; SCHINDLER, A. Biodegradation of polymers. **Controlled drug delivery**, v. 1, 2019.

POLITANO, C. A., et al. Fractional CO<sub>2</sub> laser versus promestriene and lubricant in genitourinary syndrome of menopause: a randomized clinical trial. **Menopause**, v. 26, n. 8, p. 833-840, 2019.

POMPEI, L. M.; FERNANDES, C. E.; MELO, N. R. Promestrieno no tratamento de atrofia vulvovaginal: Revisão sistemática. **Femina**. v. 38, n. 7, 2010.

PUSHPAMALAR, J. et al. Polissacarídeos biodegradáveis para administração controlada de medicamentos. **ChemPlusChem**, v. 81, n. 6, p. 504-514, 2016.

RATNER, B. D.; HOFFMAN, A. S.; SCHOEN, F. J.; LEMONS, J. E. (Ed.). An introductions to materials in medicine. San Diego: **Academic Pres**, 3 ed. 1600 p. 2013.

REDDY, N.; YANG, Y. Chitosan Fibers. In: Innovative Biofibers from Renewable Resources. **Springer**, p. 99-109, 2015.

ROCHA, B. M. A.; ALMEIDA, S. A.; SILVEIRA, C. L. G.; PEREIRA, M. D. S. V. Abordagem sobre as alterações psicofísicas do climatério e menopausa: representações e significados na saúde da mulher. **Revista de Pesquisa: Cuidado é Fundamental Online**, v. 10, n. 3, p. 140-141, 2018.

ROCHA, I. S.; MEJIA, D. P. M. **Atuação da Fisioterapia na Dor Pélvica Crônica**. 2016. 13 f. Artigo apresentado ao Programa de Pós-graduação em Uroginecologia, Obstetrícia e Mastologia da Faculdade Ávila.

RODRIGUES, A. I. P. **A tecelagem manual em Brasília: uma investigação antropológica sobre o universo têxtil**. 2010. 201 f. Tese (Doutorado) apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Antropologia Social da Universidade de Brasília.

ROSA-SILVA, S. C. J. S.; MELO, A. S. A importância da via de administração na terapia hormonal no climatério. **Femina**, v. 38, n. 6, 2010.

SALMON, D.; KASSAI, B.; ROUSSEL, L.; MOURIQUAND, P.; GÉRARD, C.; GORDUZA, D.; SERRE, C.; FALSON, F.; PIVOT, C.; PIROT, F. Ex vivo absorption of promestriene from oil-in-water emulsion into infant foreskin. **International Journal of Pharmaceutics**, v. 456, n.1, p.121-124, 2013.

SANTOS, K. O., et al. Thermal, chemical, biological and mechanical properties of chitosan films with powder of eggshell membrane for biomedical applications. **Journal of Thermal Analysis and Calorimetry**, v. 136, n. 2, p. 725-735, 2019.

SANTOS, T. R.; PEREIRA, S. V. M.; SANTOS, R. L. Intensidade da sintomatologia climatérica em mulheres pós-menopausa. **Revista da Rede de Enfermagem do Nordeste**, v. 17, n. 2, p. 225-232, 2016.

SANTOS JÚNIOR, A. R.; WADA, M. L. F. Polímeros Biorreabsorvíveis como Substrato para Cultura de Células e Engenharia Tecidual. **Polímeros: Ciência e Tecnologia**, v. 17, p. 308-317, 2007.

SARVAIYA, J.; AGRAWAL, Y. K. Chitosan as a suitable nanocarrier material for anti-Alzheimer drug delivery. **International journal of biological macromolecules**, v. 72, p. 454-465, 2015.

SELBAC, M. T., et al. Mudanças comportamentais e fisiológicas determinadas pelo ciclo biológico feminino–climatério à menopausa. **Aletheia**, v. 51, n. 1, 2018.

SILVA, S. N. **Atividade fitoestrogênica de Morusnigra L., Moraceae, em ratas ovariectomizadas**. 2012. 125 f. Tese (Doutorado) apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Biotecnologia da Rede Nordeste de Biotecnologia da Universidade Federal do Maranhão.

SILVA, A. R. **Estudo biomecânico da cavidade pélvica da mulher**. 2012. 89 f. Monografia apresentada a Faculdade de Engenharia da Universidade do Porto.

SILVA, D. R. **Comparação entre os achados ecográficos, histeroscópicos e anatomopatológico de pacientes pós menopausa encaminhadas para o ambulatório de histeroscopia**. 2015. 55 f. Dissertação (Mestrado) apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Patologia da Universidade de Ciências da Saúde de Porto Alegre.

SILVA, A. P. P. **Desenvolvimento e caracterização de filmes de quitosana reforçados com whiskers de beta-quitina**. 2017. 47 f. Monografia apresentada ao Instituto de Química de São Carlos, Universidade de São Paulo.

SILVA, A. P. S.; SILVA, J. S. A importância dos músculos do assoalho pélvico feminino, sob uma visão anatômica. **Fisioterapia Brasil**, v. 4, n. 3, p. 205-211, 2019.

SILVA, M. A., et al. Perfil nutricional e sintomatológico de mulheres no climatério e menopausa. **Cadernos da Escola de Saúde**, v. 2, n. 8, 2017.

SILVA, M. C., et al. Biodegradable suture threads as controlled drug delivery systems. **Materials Research Innovations**, p. 1-5, 2019.

SILVA, M. M., et al. Evidências contemporâneas sobre o uso da terapia de reposição hormonal/Contemporary evidence on the use of hormonal replacement therapy. **Brazilian Journal of Health Review**, v. 2, n. 2, p. 925-969, 2019.

SILVA, M. P., et al. Biomateriais e atividade sobre proteínas quinases: características químicas e funcionais. **Boletim Informativo Geum**, v. 7, n. 2, p. 16, 2016.

SILVA, R. F., et al. Tratamento da atrofia vaginal da mulher na pós-menopausa. **Reprodução & Climatério**, v. 32, n.1, p. 43-47, 2017.

SOARES, M. L. B.; BATISTA, M. S. N.; SOUSA, M. N. A. Benefícios da terapia de reposição hormonal oral na qualidade de vida de mulheres climatéricas. **Ciência & Desenvolvimento-Revista Eletrônica da FAINOR**, v. 12, n. 2, 2019.

SOUSA, W. J. B. et al. Desenvolvimento de anel intravaginal de quitosana/gelatina/promestrieno. **Revista Eletrônica de Materiais e Processos**, v. 13, n.1, 2018.

SOUZA, S. C. **Lições de anatomia**: Manual de esplanologia. Salvador: Edufba, 2010.

SOUZA, N. R. R., et al. Relação entre terapia de reposição hormonal no climatério e o desenvolvimento de neoplasias. **Braz. J. Surg. Clin Res**, v. 25, n. 2, p.135-143, 2019.

SRIVASTAVA, A., et al. Polímeros na administração de medicamentos. **Journal of Biosciences and Medicines**, v. 4, n. 1, p. 69-84, 2015.

STEPHENSON, R. G.; CONNOR, L. J. O´. **Fisioterapia Aplicada a Ginecologia e Obstetrícia**. 2. ed. São Paulo: Manole, 2004.

TAKAMUNE, D. M., et al. Conhecimento dos fatores de risco para doença cardiovascular em mulheres no climatério: estudo piloto/Knowledge of risk factors for cardiovascular disease in the climacteric period: pilot study. **Arquivos Médicos dos Hospitais e da Faculdade de Ciências Médicas da Santa Casa de São Paulo**, v. 56, n. 3, p. 117-121, 2018.

TANNER, E. E. L.; IBSEN, K. N.; MITRAGOTRI, S. Transdermal insulin delivery using choline-based ionic liquids (CAGE). **Journal of controlled release**, v. 286, p. 137-144, 2018.

TEIXEIRA, V. C., et al. Obesidade no climatério: fator de risco para o desenvolvimento de doenças cardiovasculares. **Renome**, v. 4, n. 2, p. 29-36, 2016.

TIBBITT, M. W.; DAHLMAN, J. E.; LANGER, R. Fronteiras emergentes no fornecimento de drogas. **Journal of the American Chemical Society**, v. 138, n. 3, p. 704-717, 2016.

TOMAS, F. Menopause hormone therapy: latest developments and clinical practice. **Drugs Context**.; v. 8, 2019.

TROVATTI, E. et al. Biopolímeros: aplicações farmacêutica e biomédica. **Eclética Química**, v. 41, p. 1-31, 2016.

UCHÔA, S. M. M. **Sinergia Muscular Abdomino-Pélvica em Mulheres Continentes Nuligestas e Primíparas**: Um Estudo Comparativo. Universidade Federal de Pernambuco. Recife, 2011.

VALENTE, T., et al. Polymer blending or fiber blending: A comparative study using chitosan and poly ( $\epsilon$ -caprolactone) electrospun fibers. **Journal of Applied Polymer Science**, v. 136, n. 11, p. 47191, 2019.

VANIĆ, Z.; SKALKO-BASNET, N. Nanopharmaceuticals for improved topical vaginal therapy: can they deliver? **European Journal of Pharmaceutical Sciences**, v. 50, n. 1, pp. 29-41, 2013.

WAN, Y., et al. Preparation and degradation of chitosan-poly (p-dioxanone)/silk fibroin porous conduits. **Polymer degradation and stability**, v. 119, p. 46-55, 2015.

WANG, B.; HU, L.; SIAHAAN, T. J. Entrega de medicamentos: princípios e aplicações. **John Wiley & Sons**, 2016.

YAKABE, C. **Determinação do 17 b-estradiol em formas farmacêuticas utilizadas na terapia hormonal**. 2004. 183f. Tese (Doutorado) apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Fármaco e Medicamento da Faculdade de Ciências Farmacêuticas da Universidade de São Paulo.

ZIEGLER-BOROWSKA, M., et al. Effect of side substituents on thermal stability of the modified chitosan and its nanocomposites with magnetite. **Journal of Thermal Analysis and Calorimetry**, v. 124, n. 3, p. 1267-1280, 2016.