

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

**OBTENÇÃO DE BIOMATERIAL PARA LIBERAÇÃO DE FENTICONAZOL, NO
TRATAMENTO DA VAGINITE FÚNGICA**

Venturielso Ventura Gomes

Campina Grande - PB

2017

Venturielso Ventura Gomes

**OBTENÇÃO DE BIOMATERIAL PARA LIBERAÇÃO DE FENTICONAZOL,
NO TRATAMENTO DA VAGINITE FÚNGICA**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós Graduação em Ciências e Engenharia de Materiais como requisito parcial à obtenção do título de **Mestre em Ciências e Engenharia de Materiais**.

Orientador: Prof. Dr. Marcus Vinícius Lia Fook

Campina Grande - PB

2017

FICHA CATALOGRAFICA ELABORADA PELA BIBLIOTECA CENTRAL DA UFCG

- G633o Gomes, Venturielso Ventura.
Obtenção de biomaterial para liberação de fenticonazol, no tratamento da vaginite fúngica / Venturielso Ventura Gomes. – Campina Grande, 2017.
53 f. : il. color.
- Dissertação (Mestrado em Ciência e Engenharia de Materiais) – Universidade Federal de Campina Grande, Centro de Ciências e Tecnologia, 2017.
"Orientação: Prof. Dr. Marcus Vinicius Lia Fook".
Referências.
1. Candidíase. 2. Carreadores de Fármacos. 3. Biopolímeros. I. Fook, Marcus Vinicius Lia. II. Título.

CDU 620.1:616.992(043)

VITAE DO CANDIDATO

Venturielso Ventura Gomes

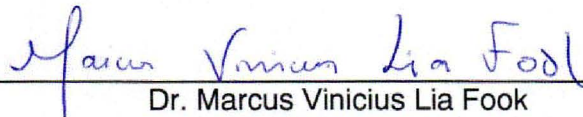
- Médico pela Universidade Federal da Paraíba – UFPB em (2003);
- Especialização em Ginecologia e Obstetrícia – UEPB em (2008);

VENTURIELSO VENTURA GOMES

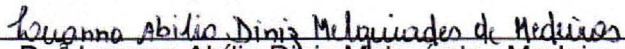
**OBTENÇÃO DE BIOMATERIAL PARA LIBERAÇÃO DE FENTICONAZOL, NO
TRATAMENTO DA VAGINITE FÚNGICA**

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

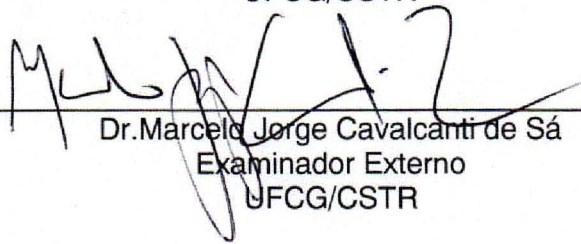
Aprovado em: 27/09/2017



Dr. Marcus Vinicius Lia Fook
Orientador
PPG-CEMat/UAEMA/UFCG



Dr.ª Luanna Abílio Diniz Melquíades Medeiros
Examinadora Externa
UFCG/CSTR



Dr. Marcelo Jorge Cavalcanti de Sá
Examinador Externo
UFCG/CSTR

RESUMO

A vaginite fúngica é um processo infeccioso e/ou inflamatório do trato geniturinário inferior feminino. No tratamento são usados antifúngicos por via oral e vaginal, dentre eles o Fenticonazol. Sistemas de liberação de fármaco vêm sendo utilizados como uma alternativa de tratamento eficaz, diminuindo os efeitos colaterais. Este trabalho objetivou obter, avaliar e caracterizar um biomaterial para liberação intravaginal do fenticonazol. Foram obtidos “scaffold” de quitosana/fenticonazol/gelatina na forma de óvulos utilizando o método de liofilização. As amostras foram neutralizadas com hidróxido de amônia e caracterizadas por Microscopia Ótica (MO), Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV), Espectroscopia por Energia Dispersiva de Raios X (EDS), Espectroscopia no Infravermelho com Transformada de Fourier (FTIR), Grau de intumescimento e Biodegradação. Por meio do ensaio de MO e MEV observou-se que a adição de gelatina e do fármaco alterou a morfologia das amostras, contribuindo para densificação e conseqüentemente no tamanho dos poros dos arcabouços. A Espectroscopia de Energia Dispersiva de Raios X e a Espectroscopia na Região do Infravermelho por Transformada de Fourier comprovaram a incorporação do fármaco. O Grau de Intumescimento foi maior na amostra quitosana/fármaco o qual se justifica pelas estruturas em aspecto de rede ou fibrilares. Quanto ao ensaio de Biodegradação, observou-se que as amostras quitosana/fármaco apresentaram menor perda de massa quando comparado com as demais amostras. Desta forma pode-se concluir que foi possível obter um biomaterial utilizando polímeros biodegradáveis com sistema liberação de fenticonazol.

Palavras - chave: Candidíase. Carreadores de fármacos. Biopolímeros.

ABSTRACT

Fungal vaginitis is an infectious and / or inflammatory process of the female genitourinary tract. In the treatment oral and vaginal antifungal agents are used, among them the Fenticonazol. Drug delivery systems have been used as an effective treatment alternative, decreasing the side effects. This work aimed to obtain, evaluate and characterize a biomaterial for intravaginal release of fenticonazole. Were obtained scaffold of Chitosan / phenticonazole / gelatin in the form of ova using the lyophilization method. The samples were neutralized with ammonium hydroxide and characterized by Optical Microscopy (OM), Scanning Electron Microscopy (SEM), X-ray Dispersive Energy Spectroscopy (EDS), Infrared Spectroscopy with Fourier Transform (FTIR), Swelling Degree and Biodegradation. By means of the MO and MEV assay it was observed that the addition of gelatin and the drug altered the morphology of the samples, contributing to densification and consequently to the pore size of the scaffold. X-ray Dispersive Energy Spectroscopy and Fourier Transform Infrared Spectroscopy proved the incorporation of the drug. The degree of swelling was higher in the chitosan / drug sample, which is justified by the network or fibrillar aspect structures. As for the Biodegradation assay, it was observed that the chitosan / drug samples presented lower mass loss when compared to the other samples. In this way it can be concluded that it was possible to obtain a biomaterial using biodegradable polymers with phenticonazole release system.

Keywords: Candidiasis. Drug carriers. Biopolymers.

PUBLICAÇÕES

GOMES, V. V. ; BARBOSA, R. C. ; FOOK, M. V. L. ; SOUSA, W. J. B. ; GUIMARAES, D. T. . SCAFFOLD PARA LIBERAÇÃO INTRAVAGINAL DE FENTICONAZOL NO TRATAMENTO DA VAGINITE FÚGICA. 2017, Brasil. Patente: Privilégio de Inovação. Número do registro: BR1020170197271, título: "SCAFFOLD PARA LIBERAÇÃO INTRAVAGINAL DE FENTICONAZOL NO TRATAMENTO DA VAGINITE FÚGICA" , Instituição de registro: INPI - Instituto Nacional da Propriedade Industrial, Depositante (s): VENTURIELSO VENTURA GOMES; André Gonçalves Bezerra Junior; Darlyson Tavares Guimarães; Wladymyr Jeffersom Bacalhau Sousa; Rossemberg Cardoso Barbosa; Marcus Vinicius Lia Fook; Universidade Federal de Campina Grande, Depósito: 15/09/2017

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 - Anatomia da Vagina.....	15
Figura 2 - Desenho esquemático da histologia vaginal	16
Figura 3 - Fórmula molecular do Fenticonazol.	20
Figura 4 - Fluxograma simplificado da elaboração dos óvulos de quitosana com gelatina e fenticonazol.....	28
Figura 5 - Imagem dos óvulos confeccionados.	29
Figura 6 - Imagens de Microscopia ótica das superfícies externas (s) e de cortes transversais (sc) das amostras de quitosana sem e com diferentes concentrações de gelatina.....	33
Figura 7 - Imagens de Microscopia ótica das superfícies externas (s) e de cortes transversais (sc) das amostras de quitosana com fármaco e com diferentes concentrações de gelatina.....	34
Figura 8 - Imagens de Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV) das superfícies externas (s) e de cortes transversais (sc) das amostras de quitosana sem gelatina	35
Figura 9 - Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV) das superfícies externas (s) e de cortes transversais (sc) das amostras de quitosana com 1% de gelatina	36
Figura 10 – Imagens de Microscopia Eletrônica de Varredura das superfícies externas (s) e de cortes transversais (sc) das amostras de quitosana com 3% de gelatina.	36
Figura 11 – Imagens de Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV) das superfícies externas (s) e de cortes transversais (sc) das amostras de quitosana com 5% de gelatina.....	37
Figura 12 - Imagens de Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV) das superfícies externas (s) e de cortes transversais (sc) das amostras de quitosana com fármaco.	38
Figura 13 - Imagens de Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV) das superfícies externas (s) e de cortes transversais (sc) das amostras de quitosana com fármaco com 1% de gelatina.....	39
Figura 14 - Imagens de Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV) das superfícies externas (s) e de cortes transversais (sc) das amostras de quitosana com fármaco com 3% de gelatina.....	39

Figura 15 - Imagens de Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV) das superfícies externas (s) e de cortes transversais (sc) das amostras de quitosana com fármaco com 5 % de gelatina.....	40
Figura 16 - Espectro de FTIR da amostra de gelatina.....	42
Figura 17- Espectroscopia na Região do Infravermelho com Transformada de Fourier das amostras de quitosana sem e com gelatina.	43
Figura 18 - Espectroscopia na Região do Infravermelho com Transformada de Fourier da amostra de fenticonazol.	44
Figura 19 - Espectroscopia na Região do Infravermelho com Transformada de Fourier das amostras de gelatina e quitosana com fármaco.	44
Figura 20 - Grau de Intumescimento (GI) com PBS das amostras em diferentes concentrações de gelatina, com e sem fármaco.	46
Figura 21 - Ensaio de Biodegradação com PBS das amostras em diferentes concentrações de gelatina, com e sem fármaco.	47
Figura 22 - Ensaio de Biodegradação com Ácido Lático das amostras em diferentes concentrações de gelatina, com e sem fármaco.	47

LISTA DE TABELA

Tabela 1 - Denominação das amostras.....	29
Tabela 2 - Concentrações dos elementos em diferentes concentrações de gelatina fármaco.	41

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

ASTM - *American Society for Testing and Materials*
CERTBIO - Laboratório de Avaliação e Desenvolvimento de Biomateriais do
EDS - Espectroscopia por Energia Dispersiva de Raios X
FTIR - Espectroscopia na Região do Infravermelho por Transformada de Fourier
GI - Grau de Intumescimento
MEV - Microscopia Eletrônica de Varredura
MF - Peso final da amostra
MI - Peso inicial da amostra
MO - Microscopia Óptica
MR - Percentual de biodegradação
P.A. - Para análise
SLF - Sistema de Liberação de Fármaco
PBS - *Phosphate Buffered Saline*
pH - Potencial Hidrogeniônico
Q - Amostra com quitosana
QF - Amostra com quitosana adicionada de fármaco
QG1 - Amostra com quitosana adicionada de 1% gelatina
QG3 - Amostra com quitosana adicionada de 3% gelatina
QG5 - Amostra com quitosana adicionada de 5% gelatina
QG1F - Amostra com quitosana adicionada de 1% gelatina com fármaco
QG3F - Amostra com quitosana adicionada de 3% gelatina com fármaco
QG5F - Amostra com quitosana adicionada de 5% gelatina com fármaco
UFCG - Universidade Federal de Campina Grande Nordeste.
Wt - Peso da amostra no tempo t
Wo - Peso inicial da amostra

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	13
2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA	15
2.1 Anatomia Vaginal	15
2.2 Vaginite Fúngica	17
2.2.1 Tratamento da Vaginite Fúngica	18
2.2.2 Tratamento com Fenticonazol Óvulo	19
2.3 Liberação Controlada de Fármacos	24
2.4 Biomateriais para liberação de fármacos	20
2.5 Quitosana	22
2.6 Gelatina	23
3 MATERIAIS E MÉTODOS	26
3.1 Local da Pesquisa	26
3.2 Materiais	26
3.2.1 Reagentes	26
3.3 Métodos	26
3.3.1 Preparação da solução de quitosana	26
3.3.2 Preparação da solução de quitosana/gelatina	27
3.3.3 Preparação da solução de quitosana/fenticonazol	27
3.3.4 Preparação da solução de quitosana/fenticonazol /gelatina	27
3.3.5 Obtenção do biomaterial	27
3.3.3 Processo de Neutralização com Hidróxido de Amônio (NH ₄ OH)	28
3.3.4 Codificação dos grupos formados	28
3.5 Caracterização	29
3.5.1 Microscopia Ótica (MO)	30
3.5.2 Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV)	30
3.5.3 Espectroscopia por Energia Dispersiva de raios X (EDS)	30
3.5.4 Espectroscopia na Região do Infravermelho por Transformada de Fourier (FTIR)	30
3.5.5 Grau de Intumescimento (GI)	31
3.5.6 Biodegradação	31
4 RESULTADOS E DISCUSSÃO	33
4.1 Microscopia Ótica (MO)	33

4.2 Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV)	34
4.3 Espectroscopia por Energia Dispersiva de raios X (EDS).....	41
4.4 Espectroscopia na Região do Infravermelho por Transformada de Fourier (FTIR).....	41
4.5 Grau de Intumescimento (GI).....	45
4.6 Biodegradação.....	46
5 CONCLUSÕES	49
6 SUGESTÕES PARA TRABALHOS FUTUROS	50
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	51

1 INTRODUÇÃO

A vaginite fúngica é um processo infeccioso e/ou inflamatório do trato geniturinário inferior feminino. Desenvolve-se em decorrência da infecção por leveduras que podem ser habitantes normais da mucosa vaginal, sendo a *Candida albicans* o agente etiológico mais comum. Prurido, leucorréia, placas esbranquiçadas, edema e eritema na vulva e vagina têm sido as manifestações clínicas mais comuns nesse tipo de infecção (Feuerschuette et al., 2010; Chaves, Santos e Cajueiro, 2015).

A sintomatologia das vulvovaginites fúngicas não é patognomônica e a suspeita clínica pode ser confirmada por testes que evidenciam a natureza do agente etiológico. As vulvovaginites fúngicas são mais frequentes em mulheres entre 18 e 34 anos de idade, não sendo observada correlação entre as espécies de leveduras detectadas e a sintomatologia clínica (Rosa e Rumel, 2004; Boatto et al., 2007).

A microbiota vaginal normal é rica em lactobacillus produtores de peróxido (bacilos de Doderlein), os quais formam ácido láctico a partir do glicogênio, cuja produção e secreção é estimulada pelos estrogênios. Esse mecanismo propicia uma acidez adequada (pH 4,5) do ambiente vaginal, dificultando a proliferação da maioria dos patógenos. A *Candida* é exceção, pois prolifera em ambiente ácido. Além do equilíbrio microbiológico da microbiota vaginal, outros fatores contribuem para a defesa vaginal: integridade da mucosa, presença das imunoglobulinas A e G e dos polimorfonucleados e monócitos (Vall e Almeida Filho, 2001).

Para o diagnóstico correto, mulheres com queixa de sintomatologia vaginal devem ser submetidas à avaliação padrão com medida do pH vaginal, teste de Whiff, microscopia à fresco e com hidróxido de potássio (KOH) a 10% (Feuerschuette, 2010).

Para o tratamento da candidíase são usados agentes anti-fungicos por via oral e vaginal, dentre eles o Fenticonazol creme a 2% que se apresenta como uma boa alternativa. O fenticonazol na forma de óvulo de 600 mg em dose única se mostrou eficaz e bem tolerado, constituindo uma opção válida no tratamento da candidíase vulvovaginal. A encapsulação de agentes antifúngicos em carreadores nanoparticulados tem sido utilizada com o objetivo de alterar a farmacocinética dos fármacos, possibilitando tratamentos mais eficazes e com menor incidência de

efeitos colaterais. Alguns sistemas de liberação de fármacos destinam-se a liberar o fármaco no organismo de modo que seja absorvido com rapidez e completamente, enquanto outros devem liberar o princípio ativo lentamente para que a ação do fármaco seja prolongada (Vall e Almeida Filho, 2001; Stulzer *et al.*, 2007).

A quitosana é um polissacarídeo que vem sendo usado como sistema polimérico na liberação de fármacos de diversas classes terapêuticas, tais como, antibióticos, antiinflamatórios, antifúngicos, anti-hipertensivos entre outras. Ela é um polímero natural, biodegradável, atóxico e devido às suas características tem se tornado um material potencialmente atraente para diversos usos, principalmente na área farmacêutica. Já foi desenvolvida membrana composta de álcool vinílico e quitosana compatível com o sistema dermo-epidérmico, que mostrou possuir características biomecânicas compatíveis com sua utilização como substituto dérmico e ser atóxico para as células (Almeida, 2009).

Cápsulas de quitosana para liberação controlada de fármacos se comportam como géis em soluções de baixo pH e são adequados para liberação de fármacos solúveis em água. Outros trabalhos descreveram que as formulações orais revestidas de quitosana flutuam e intumescem gradualmente em solução de pH 1,2. Salienta-se, ainda, que a quitosana e seus derivados apresentam algumas vantagens importantes com relação às atividades farmacológicas, atuando como antiácido, antiúlcera, protegendo a mucosa gástrica e inibindo a adesão das bactérias nas células epiteliais bucais e vaginais (Josué *et al.*, 2000).

Algumas aplicações farmacêuticas da quitosana são limitadas por problemas de hidrossolubilidade, uma vez que esta é insolúvel em água em meio neutro, condição em que enzimas fisiológicas exercem sua atividade. Partindo do princípio que derivados de quitina e quitosana podem ser preparados a fim de se melhorar sua solubilidade em água, as aplicações destes polímeros podem aumentar significativamente (Costa *et al.*, 2006).

Assim, o presente trabalho objetivou obter um biomaterial, na forma de óvulo, para liberação de fenticonazol, utilizado no tratamento da vaginite fúngica.

2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

2.1 Anatomia Vaginal

A vagina refere-se a um órgão de grande importância, caracterizando-se por ser um canal fibro muscular, na qual se estende do colo do útero até o vestíbulo do orifício vaginal, podendo medir cerca de 8 cm a 10 cm de comprimento com 3 mm de espessura média, como se apresenta na Figura 1 (Baracho, 2007).

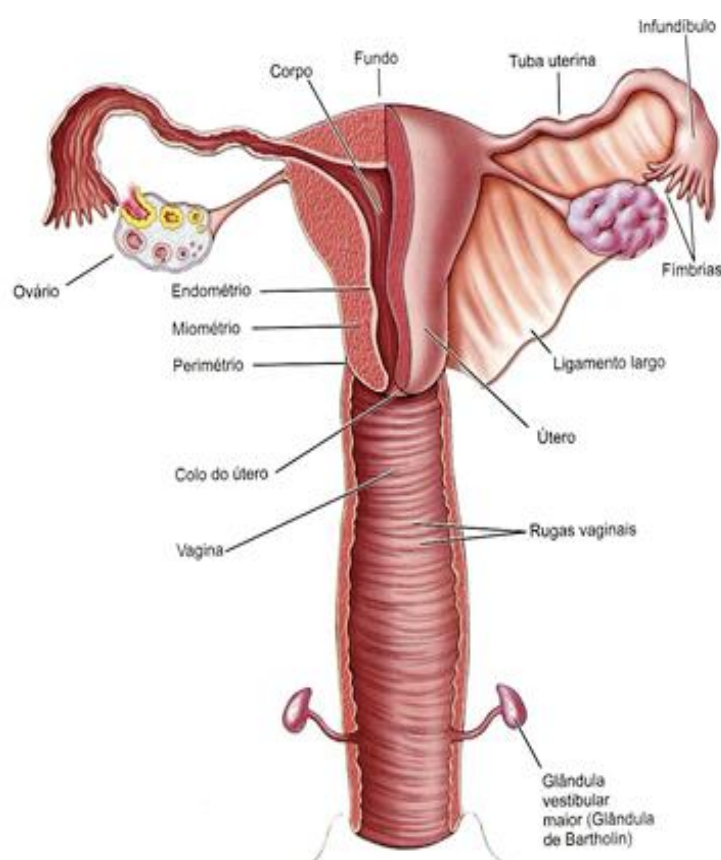


Figura 1 - Anatomia da Vagina (Fonte: <https://www.auladeanatomia.com/novosite/sistemas/sistema-genital/sistema-genital-feminino/vagina/>, 2017).

Com relação ao seu suporte, a vagina é suspensa através da inteiração dos compartimentos anterior, posterior, superior e inferiormente, onde junto com sua força elástica promove equilíbrio durante os movimentos de contração. Anteriormente é suspensa pelo ligamento pubo-uretal, superiormente por meio do arco tendíneo da fáscia endopélvica, posteriormente pelo ligamento uterosacral e inferiormente por meio do músculo elevador do ânus (Moreno, 2009; Bernardes, 2011).

Em termos histológicos, a vagina é constituída por quatro camadas distintas, nas quais são caracterizadas por um epitélio escamoso estratificado, camada túnica, camada delgada de musculatura lisa e a camada adventícia, correspondente à Figura 2. O epitélio escamoso estratificado refere-se à camada mais superficial é plana, tal estrutura compõem-se por células ricas em glicogênio, porém não possui ação secretora. Contudo, o epitélio vaginal sintetiza e acumula grandes quantidades de glicogênio por meio do lançamento no lúmen da vagina quando essas células naturalmente se descamam, onde posteriormente serão metabolizadas por certas bactérias e por os bacilos de Döderlein para a formação do ácido láctico, no qual este é responsável pelo pH baixo normal da vagina (Souza, 2010; Junqueira e Carneiro, 2013).

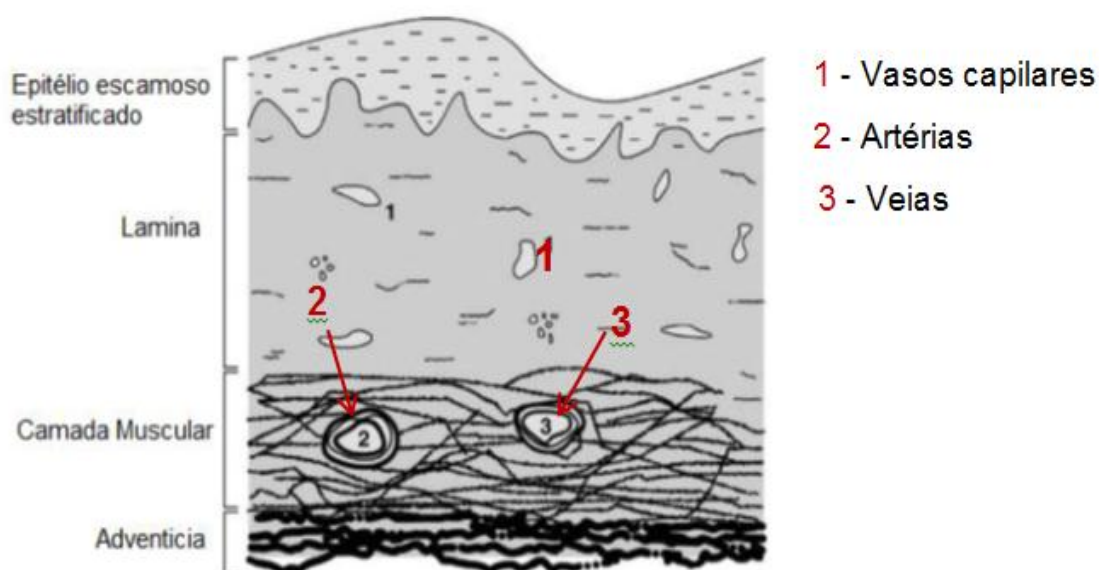


Figura 2 - Desenho esquemático da histologia vaginal (Adaptado de Neves e Bahia, 2006).

Já a segunda camada é chamada de túnica, a qual é constituída por tecido conjuntivo denso, contém abundância em fibras de colágeno e elastina, além de conter uma grande quantidade de canais vasculares e linfáticos. A terceira camada refere-se a uma delgada camada muscular lisa, sendo esta constituída por fibras musculares lisas em ambas as direções, contendo feixes entrecruzados, como também mais internamente seus feixes são dispostos circularmente e longitudinais. A última camada encontra-se disposta mais externamente sendo ela chamada de camada adventícia, tal camada é constituída por tecido conjuntivo areolar contendo

e um extenso plexo de vasos sanguíneos, as quais ainda se unem aos tecidos conectivos adjacentes (Souza, 2010; Bernardes, 2011; Junqueira e Carneiro, 2013).

Entretanto, a vagina também pode ser dividida de acordo com a sua estrutura, correspondendo em camadas, sendo elas: uma camada muscular, uma camada de tecido conjuntivo frouxo e uma camada mucosa. Contudo, a face da mucosa vaginal é a camada em que se refere ao aspecto da vagina, apresentando duas cristas longitudinais medianas, uma desposta anteriormente e outra posteriormente, entretanto, a partir destas estendem-se numerosas rugas bilaterais transversas, divididas ainda por sulcos e com profundidade variável, no qual proporciona uma aparência de papilas cônicas na superfície interna da mesma. Tais rugas possui a finalidade a percepção da dor por encontra-se várias terminações nervosas como também a funcionalidade em permitir o processo de enchimento e esvaziamento da bexiga, como também permite a sua extensão para penetração peniana e a distensão da mesma por meio do reto para promover a passagem das fezes. Sabe-se ainda que a parede vaginal não contém glândulas, contudo, o muco presente na região vaginal provém das glândulas da cérvix uterina. As vezes pode ocorrer alguma infecção ou inflamação na vagina que são denominadas de vaginite (Baracho, 2007; Moreno, 2009; Souza, 2010).

2.2 Vaginite Fúngica

A vaginite é um termo empregado para qualquer infecção ou inflamação na vagina. A candidíase, que é a infecção causada pelo fungo do gênero *Candida*, pode ser cutânea, mucosa, cutaneomucosa ou visceral. Esse microrganismo cresce melhor em superfícies quentes e úmidas, causando frequentemente vaginite, dermatite das fraldas e candidíase oral. Essas infecções são as manifestações usuais da doença e, embora normalmente não apresentem ameaça à vida, representam um problema de considerável importância socioeconômica (Gazeta-Júnior, Grigoletto e Fregonez, 2011)

No gênero *Candida* estão incluídos 200 diferentes espécies de leveduras, entre as espécies que compõem esse gênero, a *Candida albicans* apresenta maior relevância em função de sua taxa de prevalência em condições de normalidade e de doença. Essa levedura está amplamente distribuída na natureza, ocupando diversos habitats, no corpo humano, vivem normalmente nos mais diversos nichos, como

orofaringe, cavidade bucal, dobras da pele, secreções brônquicas, vagina, urina e fezes. São patógenos oportunistas frequentemente isolados das superfícies mucosas de indivíduos normais. Estão muito bem adaptados ao corpo humano, por isso podem colonizá-lo sem produzir sinais de doença em condições de normalidade fisiológica. O delicado balanço entre o hospedeiro e esse fungo comensal pode se transformar em uma relação parasitária, com o desenvolvimento de infecções denominadas candidíases. Essas infecções fúngicas variam desde lesões superficiais em pessoas saudáveis até infecções disseminadas em pacientes neutropênicos e imunocomprometidos (Costa, 2009).

A candidíase vaginal crônica é desencadeada por fatores de risco, como gestação, uso de contraceptivos orais, antibioticoterapia, diabetes *mellitus*, entre outros. Antes da era dos antibióticos e corticóides, o número de infecções por fungos era bastante reduzido. Isso é particularmente verdade para as infecções por *Candida*, especialmente por *C. albicans*, que se apresentava como comensal, mas que, com as defesas comprometidas do indivíduo, se instala, invade tecidos e provoca danos. Concomitantemente, tem sido observada uma sensível elevação na frequência de candidíase vaginal, nos últimos anos, o que torna esse diagnóstico cada vez mais comum em ginecologia. Acredita-se que existem diferenças na patogenicidade de isolados de *Candida* sp, além de fatores inerentes ao hospedeiro (Álvares, Svidzinski e Consolaro, 2007).

2.2.1 Tratamento da Vaginite Fúngica

Para fins de tratamento, a vaginite fúngica pode ser classificada como complicada ou não complicada. A não complicada ocorre em cerca de 90% das pacientes e responde prontamente à terapia antifúngica tópica ou oral de curso curto. Em geral, os antifúngicos imidazólicos, aplicados topicamente na forma de creme ou óvulo durante 5-10 dias são os agentes mais efetivos, alcançando altas taxas de cura. Fenticonazol, clotrimazol, miconazol e tioconazol têm espectros de ação similar, sendo que o terconazol tem melhor atividade contra espécies de *Candida* não-*albicans*. A terapia com agentes orais apresenta taxa de cura ligeiramente melhor que a terapia com antifúngicos tópicos, sendo que a maioria das mulheres prefere a terapia oral pelo conforto da administração (Vall e Almeida Filho, 2001). O fluconazol é o antifúngico oral mais usado para o tratamento da candidíase,

o cetoconazol e o itraconazol mostram-se também efetivos nesta condição. O tratamento do parceiro não é recomendado, a não ser que ocorra recorrência da infecção.

Na candidíase complicada, fatores como sintomas severos, recorrência (mais de 4 episódios por ano), presença de *diabetes mellitus*, imunossupressão ou infecção por espécies não-*albicans* estão presentes e requerem terapia mais prolongada (≥ 7 dias) ou duas doses de fluconazol 100 mg administradas em 72 hs. Na doença recorrente, após controlados os fatores causais e a instituição da terapêutica medicamentosa prolongada, a profilaxia ou um regime de manutenção deve ser realizado por 6 meses incluindo: fluconazol 150 mg (1 x por semana), cetoconazol 100 mg (1 x ao dia), itraconazol 100 mg (dias alternados) ou aplicação de imidazólico tópico diariamente. Para pacientes grávidas, os antifúngicos orais não são recomendados. O tratamento deve ser de pelo menos 7 dias com antifúngicos tópicos como fenticonazol, clotrimazol, terconazol ou miconazol (Ferracin e Oliveira, 2005).

2.2.2 Tratamento com Fenticonazol Óvulo

O fenticonazol (Figura 3) ou a (2,4-diclorofenil)-b (N, imidazol) etil 4-feniltiobenziléter na forma de nitrato é um derivado imidazólico que apresenta atividade antimicótica de largo espectro. Em relação à *Candida albicans* apresenta ação fungistática entre as concentrações de 1,25 e 20 mg/ml e fungicida entre 5 e 40 mg/ml. O valor mais baixo da concentração inibitória mínima (CIM) para o fenticonazol, ou seja, sua máxima atividade é alcançada em pH 4, semelhante ao ambiente vaginal. Apresenta também uma importante atividade sobre a *Candida* em pH ácido. Isto resultaria na excelente indicação nas vulvovaginites cursando com diminuição de pH, como a que ocorre na infecção por *Candida albicans* (Gorlero et al., 1994).

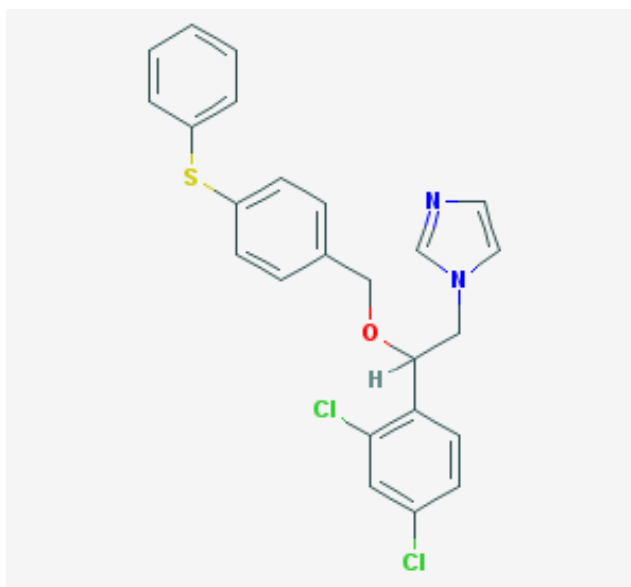


Figura 3 - Fórmula molecular do Fenticonazol (Fonte: <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/fenticonazole>, 2017).

Uma propriedade importante do fenticonazol que contribui com sua eficácia terapêutica é a sua boa absorção pela parede vaginal e sua concentração permanente no local. No caso do creme vaginal, a aplicação local de 200 mg corresponde a uma média de concentração dose-dependente de 2,85 mg/g medida 12 horas após, permitindo a continuidade da atividade fungistática pelo menos por 24 horas (Ichimura, 2013).

O nitrato de fenticonazol atua alterando a permeabilidade da membrana do fungo com a inibição da formação de ergosterol, um constituinte vital para sua estrutura, promovendo danos à membrana citoplasmática, além de inibição na produção de proteinases ácidas. Esse duplo mecanismo de ação culmina na destruição do patógeno por inviabilizar o crescimento do fungo e também diminui a incidência de recidivas (Naud *et al.*, 2003).

Goodman e colaboradores (2003) demonstraram a eficácia do fenticonazol óvulo no tratamento da candidíase vaginal, inclusive como única aplicação do fenticonazol óvulo quando comparado ao esquema de múltiplas aplicações.

2.3 Biomateriais Poliméricos

É definido através da Conferência de Consenso em Biomateriais para aplicações clínicas de 1982 que entende-se por biomaterial toda substância (com

exceção de fármacos) ou combinação de substâncias, de origem sintética ou natural, que durante um período de tempo pré determinado é empregado como um todo ou parte integrante de um sistema para tratamento, ampliação ou substituição de quaisquer tecidos, órgãos ou funções corporais (Mirtchi, Lemaitre e Terao, 1989; Magalhães, Menezes e Oliveira, 2000).

Os biomateriais podem ser de natureza metálica, cerâmica, polimérica, ou tratar-se de compósitos, porém, para que possam ser usados em aplicações médicas, eles devem possuir uma série de propriedades específicas, que podem, fundamentalmente, serem agrupadas em uma característica chamada biocompatibilidade. O termo biocompatibilidade foi utilizado para designar o desempenho biológico dos materiais. Materiais biocompatíveis podem ser considerados biomateriais, pois a biocompatibilidade indica a propriedade do material de provocar uma resposta adequada por parte dos tecidos do hospedeiro, quando utilizado em uma aplicação específica (Simões, 2007).

Há um interesse na utilização de biomateriais poliméricos biodegradáveis em sistemas de liberação controlada de fármacos devido os mesmos apresentarem, além da biocompatibilidade, a não toxicidade, taxas de degradação controladas, não havendo a necessidade de remoção cirúrgica dos sistemas de liberação (Sinha e Trehan, 2003; Ghanbar *et al.*, 2013). Com isso, tem-se utilizado bastante a quitosana que é um polímero biocompatível e biodegradável, recomendado para uma grande variedade de aplicações biomédicas (Dash *et al.*, 2011; Bierbrauer *et al.*, 2014).

A quitosana tem características biofarmacêuticas interessantes, tais como sensibilidade ao pH, biocompatibilidade e baixa toxicidade. Além disso, a quitosana é metabolizada por certas enzimas humanas, especialmente a lisozima. Devido a estas propriedades favoráveis, o interesse pela quitosana e seus derivados em aplicações de liberação de fármacos tem aumentado consideravelmente. Em tais aplicações é extremamente importante que a quitosana seja hidrossolúvel e carregada positivamente. Estas propriedades permitem que esta interaja com polímeros carregados negativamente, macromoléculas e poliânions em meio aquoso, favorecendo a difusão de fármacos no mecanismo de liberação. Portanto, a quitosana hidrossolúvel pode ser sugerida como um interessante excipiente para administração de fármacos (Laranjeira e Fávere, 2009).

2.3.1 Quitosana

A quitosana, que é um polímero natural, vem se destacando como material biodegradável e bioabsorvível, pois seus produtos de degradação são atóxicos, não imunogênicos e não carcinogênicos.

O uso de quitosana como excipiente apresenta muitas vantagens, pois o polímero atua aumentando a solubilidade de fármacos pouco solúveis, como proteínas e peptídeos, e estabilizando as emulsões comumente empregadas no campo farmacêutico. Ela e seus derivados apresentam grande versatilidade para aplicações nessa área, pois podem ser empregados na forma de implantes, esponjas, filmes, grânulos, xerogéis, micro e nanopartículas. Os usos como sistemas particulados carreadores de princípios ativos são, particularmente importantes nas terapêuticas que visam a administração de fármacos pela via oral, através das mucosas e também na administração parenteral (Costa *et al.*, 2006).

A liberação controlada de drogas é um dos campos nos quais a quitosana e derivados têm encontrado grande número de aplicações. O emprego de dispositivos que permitem a liberação controlada de fármacos apresenta muitas vantagens sobre os métodos convencionais, tais como: a) nível constante do princípio ativo, pois a liberação é uniforme; b) utilização mais eficaz do agente ativo, pois sendo a liberação constante e uniforme é necessária menor quantidade do agente ativo para produzir o mesmo efeito que o atingido quando o método convencional é empregado; c) liberação e retenção do agente ativo no sítio de ação, de forma que se tem uma redução na dosagem e, conseqüentemente, redução dos efeitos colaterais; d) administração menos frequente do medicamento, uma vez que ocorre um menor número de aplicações para manutenção da concentração do agente ativo (Josué *et al.*, 2000)

A presença de numerosas pontes de hidrogênio, intermoleculares e intramoleculares nas moléculas de quitosana contribuem para o caráter semicristalino do polímero. Além disso, faz com que ela não apresente nenhum ponto de fusão, sendo solúvel apenas em pH na faixa ácida (Rinaudo, 2006).

Deve ser ressaltado que a quitosana absorve grande quantidade de água em meio ácido, o que resulta em acentuado intumescimento e aumento de volume, levando à formação de hidrogel. O intumescimento provoca o aumento da porosidade e, portanto da permeabilidade do hidrogel, levando à liberação do

fármaco. Tal característica é muito interessante, pois o intumescimento se deve, em grande medida, à protonação dos grupos amino de quitosana a qual, por sua vez, depende da acidez do meio. Assim, dispositivos à base de quitosana são adequados para a administração controlada de fármacos no trato gastrointestinal, pois a dependência da sua capacidade de intumescer com o pH alto permite que a liberação do fármaco ocorra apenas no local adequado (Stulzer *et al.*, 2007)

A derivatização do grupo $-NH_2$ com reagentes contendo grupos tiol permite a formação de quitosana tiolada, a qual pode ser usada para administração de peptídeos, por rota nasal, e fármacos com atividade antiviral, por rota oral. Várias propriedades da quitosana são melhoradas pela derivatização com grupos tíois, tais como: (a) a mucoadesividade é aumentada devido à formação de ligações dissulfídicas; (b) a permeação paracelular é mais acentuada; (c) ocorre a geleificação *in situ*; (d) tem-se uma melhor coesão e estabilidade nas matrizes responsáveis pelo transporte do fármaco; (e) a liberação controlada dos princípios ativos é mais prolongada. Nas formas de esponja e micro-grânulos pode ser utilizada para liberação de drogas. Entretanto um fato observado é que a taxa de liberação pode ser afetada pela hidrofiliabilidade do fármaco, variando de acordo com o grau hidrofiliabilidade ou hidrofobicidade (Campana Filho *et al.*, 2007).

Outro polímero estudado para utilização em sistema de liberação de fármaco é a gelatina devido a sua bioadesividade, principalmente em se tratando de aderência a mucosas corporais.

2.3.2 Gelatina

A gelatina é um polímero de origem animal formado por aminoácidos derivados do colágeno, que por sua vez é uma proteína encontrada na maioria dos seres vivos, apresentando composição diferente entre os reptéis, peixes. É um produto reconhecido pelas pessoas na sua forma tradicional para sobremesa literalmente chamada de gelatina, é utilizada na área alimentícia, mas também na área farmacêutica e técnica (adesivos, têxtil, etc.). Ela é responsável em manter a integridade física em várias partes do organismo como cartilagens, ossos, dentes, pele, entre outras, e para desenvolver esta função, o colágeno forma fibras longas com moléculas de alto peso molecular, bem resistentes e insolúveis (Almeida, 2012).

A gelatina na verdade é uma mistura de proteínas solúveis em água obtida de matérias-primas animais contendo colágeno, e as frações de proteína consistem basicamente dos aminoácidos como glicina, prolina, hidroxiprolina, ácido glutâmico, alanina, arginina, ácido aspártico, lisina, leucina, valina, fenilalanina, treonina, isoleucina, metionina, histidina, tirosina, serina, cistina e cisteína (Prestes, 2012).

É considerada diferente de outras proteínas por apresentar uma notável ausência de ordem interna. Em nível molecular, a formação de gelatina-gel envolve uma reestruturação protéica, com a transição de um estado desordenado para uma estrutura mais ordenada, e as propriedades físicas destes géis resultam do grau de formação de junções microcristalinas.

A ausência de água na gelatina produz uma distorção na conformação molecular e aumenta o número de ligações de hidrogênio intramoleculares. Devido a estas características, a gelatina pode ser utilizada para formação de filmes.

2.4 Liberação Controlada de Fármacos

Sistema de Liberação de Fármaco (SLF) é um sistema de administração desenvolvido para prolongar o tempo de liberação do fármaco no organismo, manter sua concentração plasmática e controlar a localização temporal e espacial das moléculas *in vivo*, por meio da aplicação de princípios biológicos e químicos. Desse modo, alterações cíclicas na concentração são eliminadas e a disponibilidade biológica do fármaco é aumentada. Também, pode ser conseguida redução da toxicidade, supressão de reações adversas e diminuição do número de doses administradas, diariamente. É ainda definido como uma formulação ou um dispositivo que permite a introdução de uma substância terapêutica no corpo e melhora a sua eficácia e segurança através de um controle de taxa, de tempo e localização no corpo para a liberação de drogas. Tendo como objetivo minimizar a frequência das dosagens de medicamentos nos locais específicos do organismo e manter constante a concentração sanguínea de uma determinada droga, assegurando uma maior biodisponibilidade, e reduzir os efeitos colaterais, favorecendo a adesão do paciente ao tratamento com um menor número de dosagens requeridas (Kockisch, 2005; Kalachandra e Takamata, 2006; Henrique, Falcare e Lopes, 2006; Jain, 2008).

Já o SLF convencionais apresentam um aumento na concentração sanguínea do fármaco logo após a administração do mesmo, e posterior decréscimo, conforme o tempo de ação do medicamento, como é o caso dos spray, injeção e pílulas (Lyra *et al.*, 2007).

A indústria farmacêutica tem investido fortemente no desenvolvimento de medicamentos de liberação controlada com a geração de novas patentes, o que do ponto de vista empresarial representa retorno financeiro a longo prazo (Jain, 2008; Holanda, 2011).

A obtenção de um sistema de liberação controlada é bastante difícil, pois o sistema deve transportar o fármaco para seu sítio de ação, tornando-o disponível na concentração eficaz, em um tempo apropriado e para uma duração de ação adequada (Coimbra, 2010).

3 MATERIAIS E MÉTODOS

3.1 Local da Pesquisa

A pesquisa foi desenvolvida no Laboratório de Avaliação e Desenvolvimento de Biomateriais do Nordeste - Certbio, que está localizado no Bloco CJ3, na Universidade Federal de Campina Grande - UFCG

3.2 Materiais

- Quitosana - Certbio
- Gelatina tipo A - Sigma Aldrich.

3.2.1 Reagentes

- Ácido Acético Glacial - P.A. Vetec[®]
- Acido Láctico 85% P.A - Vetec[®]
- PBS: *Phosphate Buffered Saline* (PBS) - Sigma Aldrich[®], pH = 7,4.
- Lisozima - Sigma Aldrich[®]
- Hidróxido de amônia - P.A. Vetec[®]
- Água destilada
- Soro fisiológico a 0,9%
- Fenticonazol - Sigma Aldrich

3.3 Métodos

3.3.1 Preparação da solução de quitosana

A solução de quitosana (2%) foi preparada por meio da dissolução do polímero na forma de pó com uma solução de ácido acético (1%) (m/v), com agitação mecânica constante a temperatura ambiente por 2 horas.

3.3.2 Preparação da solução de quitosana/gelatina

Foram obtidas soluções de quitosana/gelatina, incorporando gelatina nas diferentes concentrações (1%, 3% e 5%) (m/m) à solução de quitosana 2% sob agitação mecânica constante por 30 minutos (Fook, 2012).

3.3.3 Preparação da solução de quitosana/fenticonazol

A solução de quitosana/fenticonazol foi obtida incorporando o fenticonazol na concentração de 50mg à solução de quitosana, sob agitação mecânica constante por 30 minutos.

3.3.4 Preparação da solução de quitosana/fenticonazol /gelatina

A metodologia utilizada para obtenção da solução de quitosana/ fenticonazol /gelatina, foi a mesma utilizada na solução de quitosana/fenticonazol, onde foi incorporado diferentes concentrações de gelatina (1%, 3% e 5%) (m/m) à solução de quitosana/fármaco sob agitação mecânica constante por 30 minutos.

O percentual da gelatina foi em relação a quantidade de quitosana presente na solução.

3.3.5 Obtenção do biomaterial

Após a obtenção das diferentes soluções, as mesmas foram colocadas em recipientes com formato ovalado de capacidade para 2 ml, congeladas em ultrafreezer por 24 h e em seguida liofilizadas, neutralizadas e caracterizadas.

A Figura 4 ilustra o fluxograma simplificado da elaboração dos óvulos de quitosana, quitosana com gelatina, quitosana com gelatina e fenticonazol.

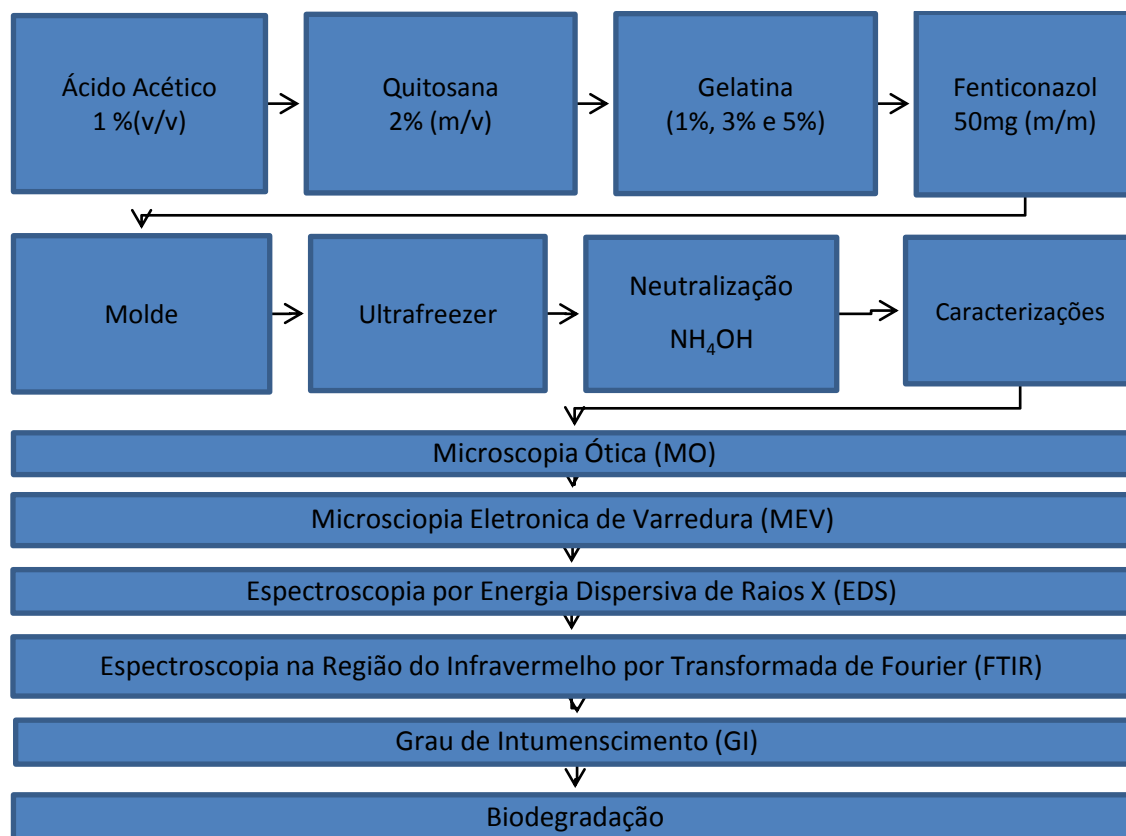


Figura 4 - Fluxograma simplificado da elaboração dos óvulos de quitosana com gelatina e fenticonazol (Fonte: Própria).

3.3.3 Processo de Neutralização com Hidróxido de Amônio (NH₄OH)

No preparo da solução de hidróxido de amônio, foi dispensado em um balão volumétrico 500 mL de água destilada, estando a capela para exaustão de gases da SPLabor ligada, e incorporado 50 mL de hidróxido de amônio; completando-se com água destilada até atingir o volume final de 1000 mL.

Os scaffolds foram neutralizados com a solução de hidróxido de amônio, pH 12,78, permanecendo as amostras sob atmosfera dessa solução, com a capela de exaustão ligada, por um período de 72 horas.

3.3.4 Codificação dos grupos formados

A Tabela 1 ilustra as codificações dos respectivos grupos formados a partir da metodologia aplicada.

Tabela 1 - Denominação das amostras.

Codificação das Amostras	
Q	Amostra com quitosana
QG1	Amostra com quitosana adicionada de 1% gelatina
QG3	Amostra com quitosana adicionada de 3% gelatina
QG5	Amostra com quitosana adicionada de 5% gelatina
QF	Amostra com quitosana adicionada de fármaco
QG1F	Amostra com quitosana adicionada de 1% gelatina com fármaco
QG3F	Amostra com quitosana adicionada de 3% gelatina com fármaco
QG5F	Amostra com quitosana adicionada de 5% gelatina com fármaco

Fonte: Própria

A Figura 5 corresponde a imagem dos óvulos que foram confeccionados segundo a metodologia proposta.



Figura 5 - Imagem dos óvulos confeccionados (Fonte: Própria).

3.5 Caracterizações

A seguir serão apresentadas e descritas as técnicas de caracterização, as quais foram utilizadas na pesquisa.

3.5.1 Microscopia Ótica (MO)

A técnica por microscopia ótica foi utilizada para avaliar a morfologia dos sistemas obtidos, em um Microscópio Óptico Hirox de reflexão e transmissão com acessórios 2D e variação de 50X-400X, acoplado a uma estação de análise de imagens. As imagens foram obtidas nos aumentos de 80x e 270x.

3.5.2 Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV)

Para realização das análises foi utilizado o microscópio eletrônico de varredura de bancada, modelo TM-1000, marca Hitachi, com aumento de até 10000x, profundidade de foco de 1mm, resolução de 30nm, 15KV, baixo vácuo e pressão variada (1 a 270Pa), sem recobrimento metálico. O MEV foi utilizado para identificar a morfologia da superfície e da estrutura formada, o tamanho, a forma e a distribuição dos poros do sistema. As imagens foram obtidas nos aumentos de 80x e 500x.

3.5.3 Espectroscopia por Energia Dispersiva de Raios X (EDS)

A caracterização por EDS foi realizada em um Microscópio Eletrônico de Varredura fabricado pela HITACHI, modelo TM- 1000, e determinou a composição pontual do biomaterial, isto pelo sistema para micro análise químico por Espectroscopia de Energia Dispersiva - EDS acoplado no MEV.

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

As amostras foram submetidas a técnica de espectroscopia na região do infravermelho com transformada de Fourier, em temperatura ambiente, o equipamento utilizado foi o Spectrum 400 da Perkin Elmer. A técnica FTIR foi realizada para identificar as bandas características dos grupos funcionais presentes nas amostras, utilizando a faixa de varredura de 4000 a 650 cm^{-1} .

3.5.5 Grau de Intumescimento (GI)

Este ensaio foi realizado com o objetivo de avaliar o grau de intumescimento dos sistemas obtidos. Os mesmos foram inicialmente pesados e mantidos em solução de soro fisiológico por 24 h. Em seguida as amostras foram retiradas da solução, colocadas sobre papel filtro para retirar o excesso de solução e pesadas novamente em balança digital. O grau de intumescimento de cada amostra no tempo t , foi calculado de acordo com a Equação 1.

Todas as amostras passaram por medições antes e após o intumescimento para verificar o quanto o sistema aumentou de tamanho.

$$GI = \frac{WT - W_0}{W_0} \times 100 \quad \text{Equação 1}$$

W_0

Onde:

W_t : é o peso da amostra no tempo t (após 24hs em soro fisiológico)

W_0 : é o peso inicial da amostra.

3.5.6 Biodegradação

O ensaio de biodegradação foi realizado para observar a degradação do sistema por um período de 7 dias.

Este ensaio teve 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).

Os sistemas obtidos foram pesados em balança digital antes e após serem submetidos ao ensaio de biodegradação para verificar a perda de massa dos mesmos. As amostras foram divididas em dois grupos, sendo um contendo uma solução de Phosphate Buffered Saline – PBS com concentração de 1mg/mL como controle (pH 7) e o outro grupo com uma solução a base de água destilada e ácido láctico (pH 4,5 próximo do encontrado na vaginite). O pH da solução foi verificado no início e no término do ensaio para avaliação das possíveis variações.

Foram utilizadas cinco unidades para cada grupo, tanto para a solução de PBS quanto para solução ácida. O material foi incubado em estufa microbiológica, à temperatura de 37 °C, sendo retiradas da estufa após 7 dias, seguindo um procedimento de lavagem em água destilada, secagem por 24 horas 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 2.

$$MR = \frac{Mf}{Mi} \quad \text{Equação 2}$$

Onde:

Mf: é o peso final

Mi: é o peso inicial

4 RESULTADOS E DISCUSSÃO

Foram realizadas as preparações dos óvulos de quitosana, quitosana com gelatina, quitosana com gelatina e fármaco nas diferentes concentrações e a seguir submetidas aos processos de caracterização

4.1 Microscopia Ótica (MO)

Este ensaio foi realizado com a finalidade de observar a morfologia de todas os grupos obtidas nesta pesquisa e compará-las.

Na Figura 6 podem ser observadas imagens das superfícies externas e internas por meio do corte transversal das amostras de quitosana sem e com gelatina nas diferentes concentrações.

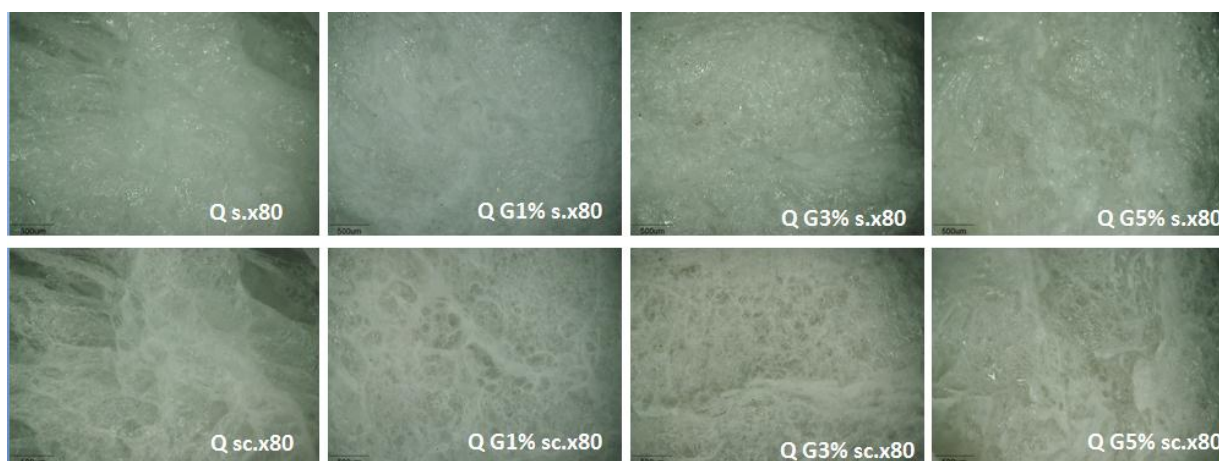


Figura 6 - Imagens de Microscopia ótica das superfícies externas (s) e de cortes transversais (sc) das amostras de quitosana sem e com diferentes concentrações de gelatina (Fonte: Própria).

Nas imagens das superfícies externas (s) e de corte transversal (sc) das amostras observa-se que, com o aumento do percentual de gelatina na solução de quitosana ocorre uma densificação dos arcabouços, implicando no aumento do número de poros e conseqüentemente uma diminuição no diâmetro dos mesmos, sendo melhor observado nos cortes transversais. Na superfície externa evidencia-se maior rugosidade com o aumento do percentual de gelatina.

Segundo Fook (2012) arcabouços de quitosana com gelatina apresentam sejam macroscopicamente e microscopicamente, estruturas de superfícies externa e de corte transversal diferentes. Na superfície de corte o material apresenta a

formação de canais multiorientados e distribuídos de forma irregular. Com o aumento da proporção de gelatina na composição final foi possível observar arcabouços mais densos, com superfícies mais lisas e homogêneas.

A técnica por microscopia ótica evidenciou que com o aumento do percentual de gelatina na solução de quitosana promove uma densificação dos arcabouços, implicando numa diminuição do diâmetro dos poros. Com o incremento do fármaco houve surgimento de áreas hipercrômicas, sugerindo a incorporação do fármaco ao óvulo quitosana/gelatina (Figura 7).

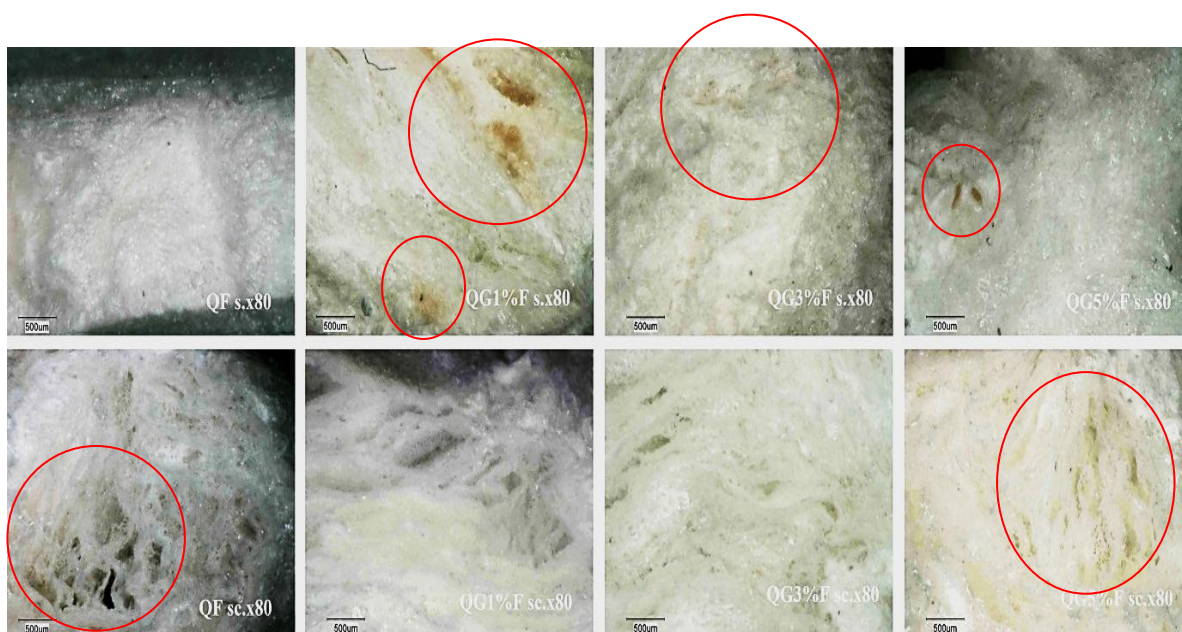


Figura 7 - Imagens de Microscopia Ótica das superfícies externas (s) e de cortes transversais (sc) das amostras de quitosana com fármaco e com diferentes concentrações de gelatina (Fonte: Própria).

4.2 Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV)

As imagens observadas no ensaio de MEV corroboram com os resultados obtidos pelo ensaio de MO, onde foi possível observar maior quantidade de poros na superfície de corte e estes apresentaram-se interconectados e de tamanhos e formas variados.

Observa-se na superfície de corte das amostras só com quitosana (Figura 8), estruturas com aspectos lamelares. Já na superfície externa observa-se material com aspecto denso, liso com algumas regiões rugosas.

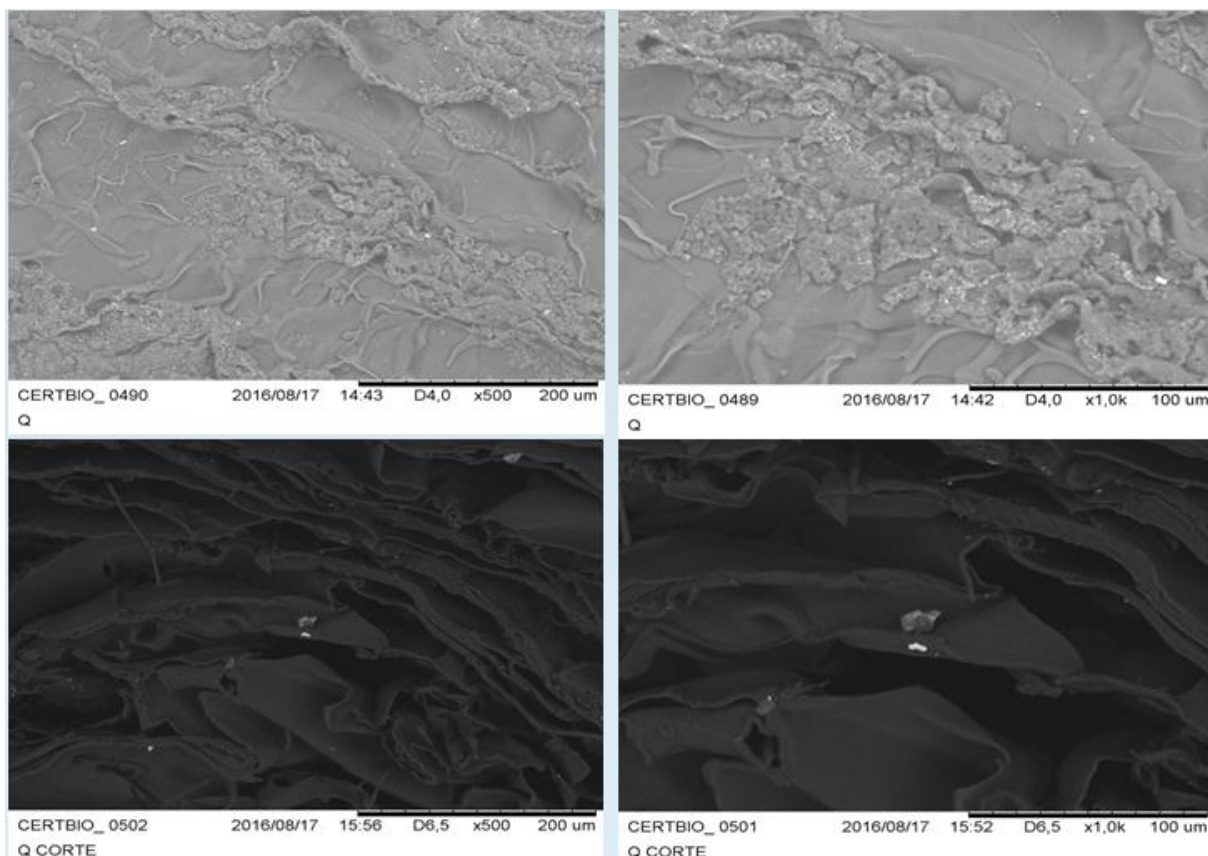


Figura 8 - Imagens de Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV) das superfícies externas (s) e de cortes transversais (sc) das amostras de quitosana sem gelatina (Fonte: Própria).

Nas imagens de superfície internas das amostras de quitosana com diferentes concentrações de gelatina (Figuras 9 a 11), observam-se que as estruturas de aspectos lamelares tornam-se mais densas, diminuindo o aspecto lamelar devido a redução dos diâmetros dos poros, quando comparadas as amostras sem adição de gelatina.

Já nas superfícies externas das amostras observam-se material de aspecto denso, com presença de alguns poros e aumento da rugosidade. Este fato é potencializado com o aumento da concentração de gelatina.

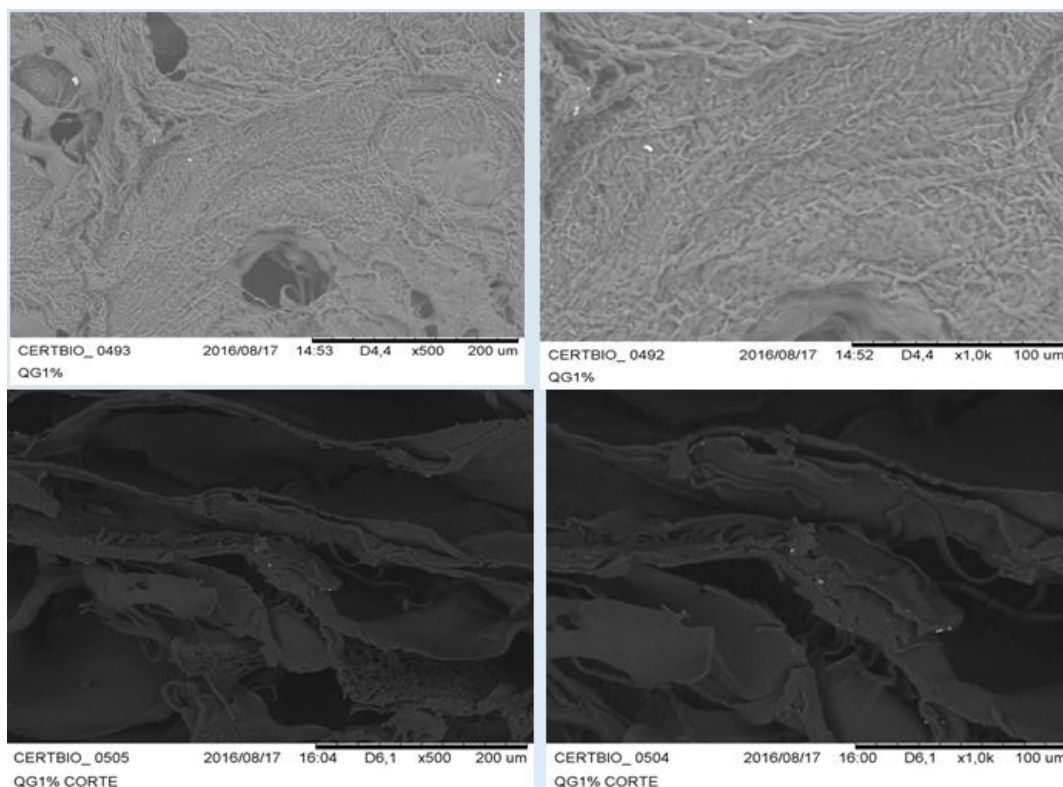


Figura 9 - Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV) das superfícies externas (s) e de cortes transversais (sc) das amostras de quitosana com 1% de gelatina (Fonte: Própria).

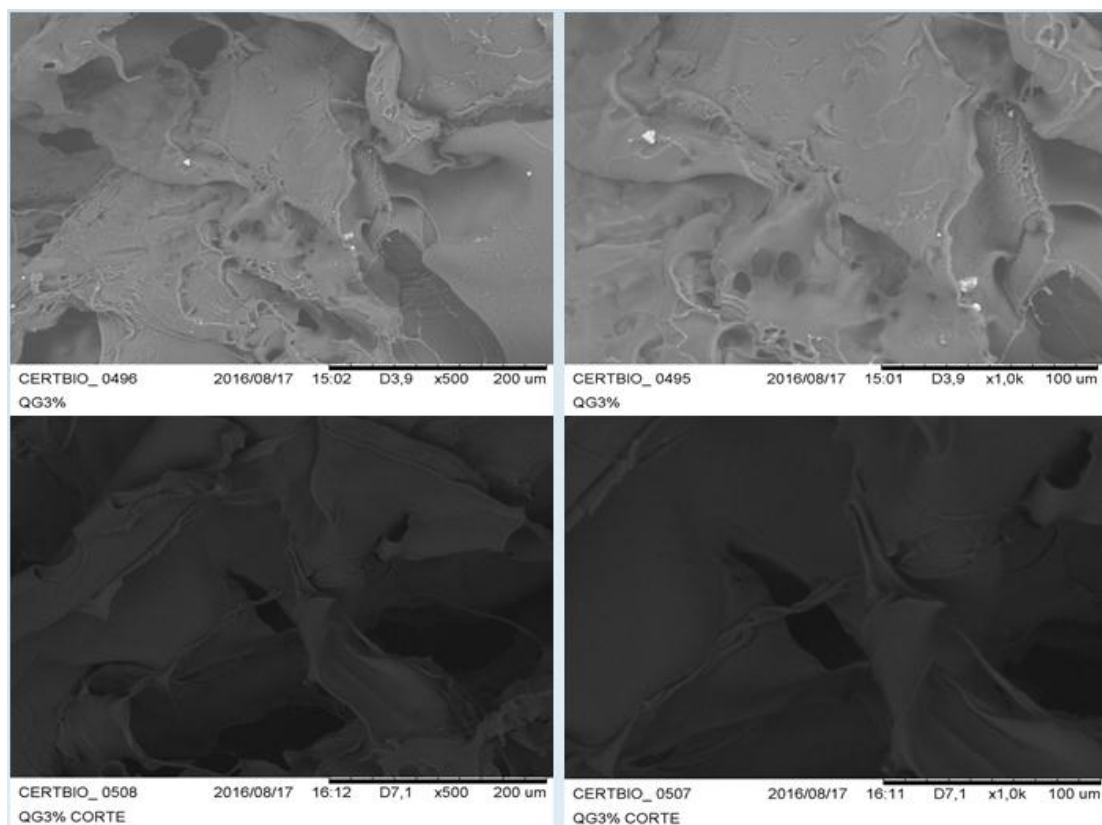


Figura 10 – Imagens de Microscopia Eletrônica de Varredura das superfícies externas (s) e de cortes transversais (sc) das amostras de quitosana com 3% de gelatina (Fonte: Própria).

Fook (2012) observou o efeito da concentração de gelatina na morfologia dos arcabouços utilizando soluções de gelatina 2%, 5% e 10%, e as micrografias MEV da superfície e secções longitudinal e transversal, onde se observou uma clara modificação na microestrutura dos arcabouços, com a adição de gelatina, quando comparado ao arcabouço de quitosana. Todos os arcabouços apresentaram uma superfície densa, lisa e sem a presença de poros. O arcabouço com menor concentração de gelatina apresentou em sua secção longitudinal uma estrutura porosa irregular, formado por macroporos com formatos indefinidos e a seção transversal apresentou canais multi-orientados. Com o aumento do teor de gelatina para 5%, foi possível observar, nas secções longitudinal e transversal do arcabouço macroporos mais regulares com formatos mais esféricos. Contudo, o arcabouço com maior concentração de gelatina, QG10, apresentou uma estrutura mais densa e irregular, com diminuição significativa no tamanho dos poros e estes resultados corroboram com os encontrados nesta pesquisa.

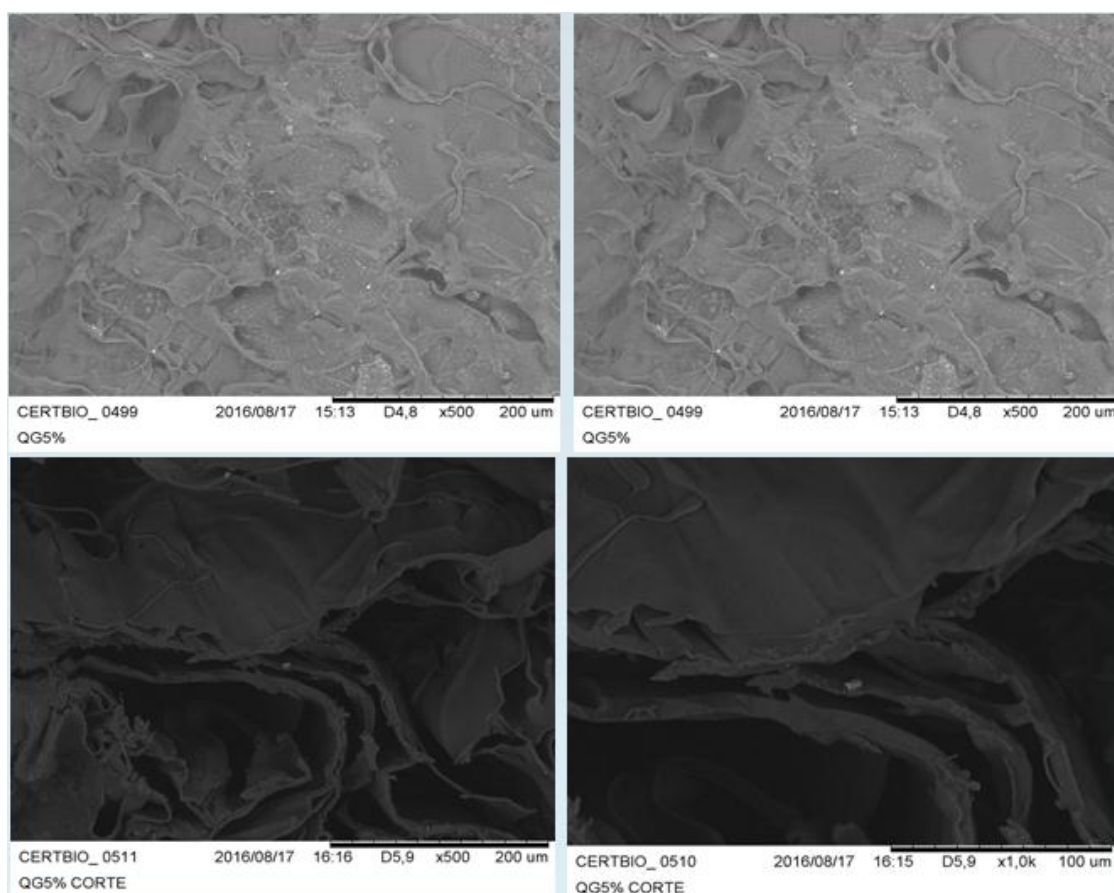


Figura 11 – Imagens de Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV) das superfícies externas (s) e de cortes transversais (sc) das amostras de quitosana com 5% de gelatina (Fonte: Própria).

Wu e colaboradores (2010) e Chung e colaboradores (2002) relataram em seus estudos que a concentração de gelatina influencia o crescimento dos cristais de gelo durante o congelamento, etapa inicial da liofilização, alterando a porosidade e tamanho de poros. Na solução de gelatina, as moléculas da água são separadas pelas macromoléculas da gelatina, bloqueando as moléculas da água de se concentrarem e se arranjam durante a etapa de congelamento. Com o aumento da concentração de gelatina durante o processo de congelamento, a viscosidade da solução de gelatina sofre um aumento, dificultando ainda mais o processo de separação do solvente (água). Esse fato restringe o crescimento dos cristais e, conseqüentemente reduz a porosidade e o tamanho dos poros dos arcabouços.

A associação quitosana/fármaco evidenciou a presença de estruturas fibrilares, dando aspecto de rede, possivelmente tornando o material mais resistente, favorecendo a expansão conseqüentemente a maior entrada de água no sistema. Quanto maior a concentração de gelatina, maior o aumento da espessura das lamelas, como pode-se observar nas Figuras 12 -15.

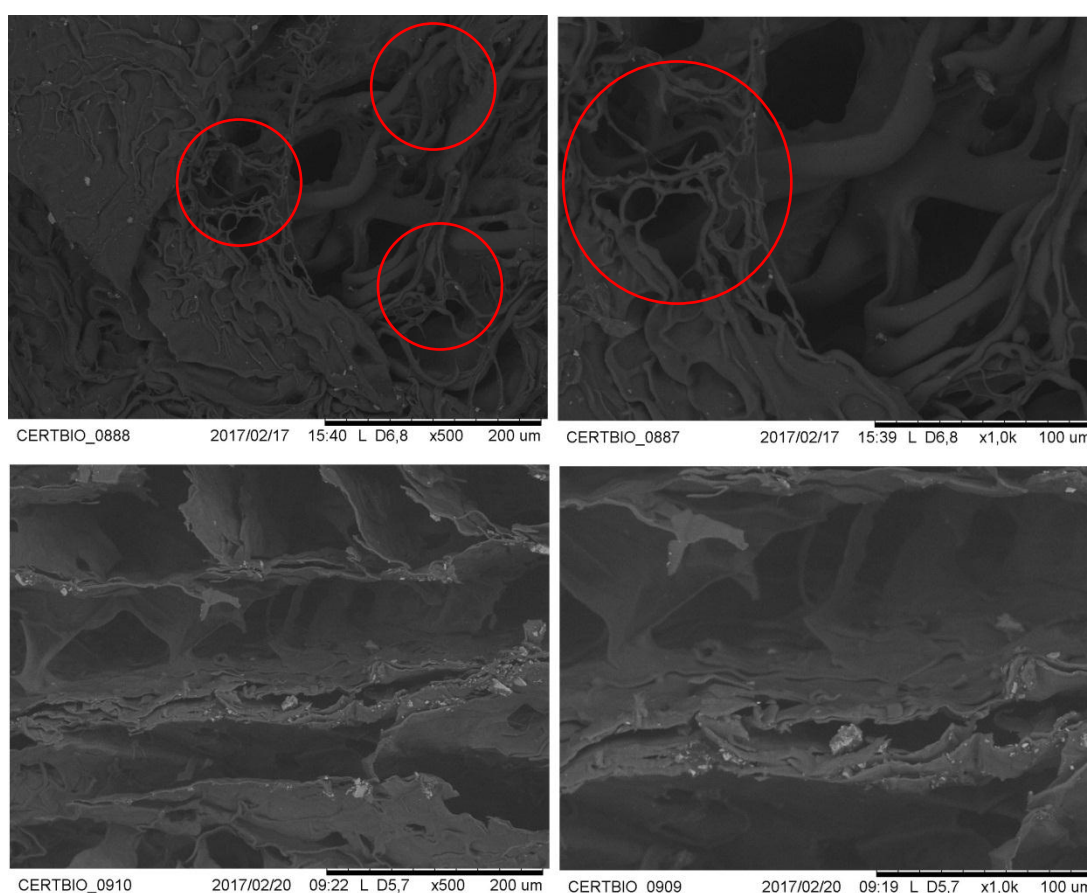


Figura 12 - Imagens de Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV) das supercies externas (s) e de cortes transversais (sc) das amostras de quitosana com fármaco (Fonte: Própria).

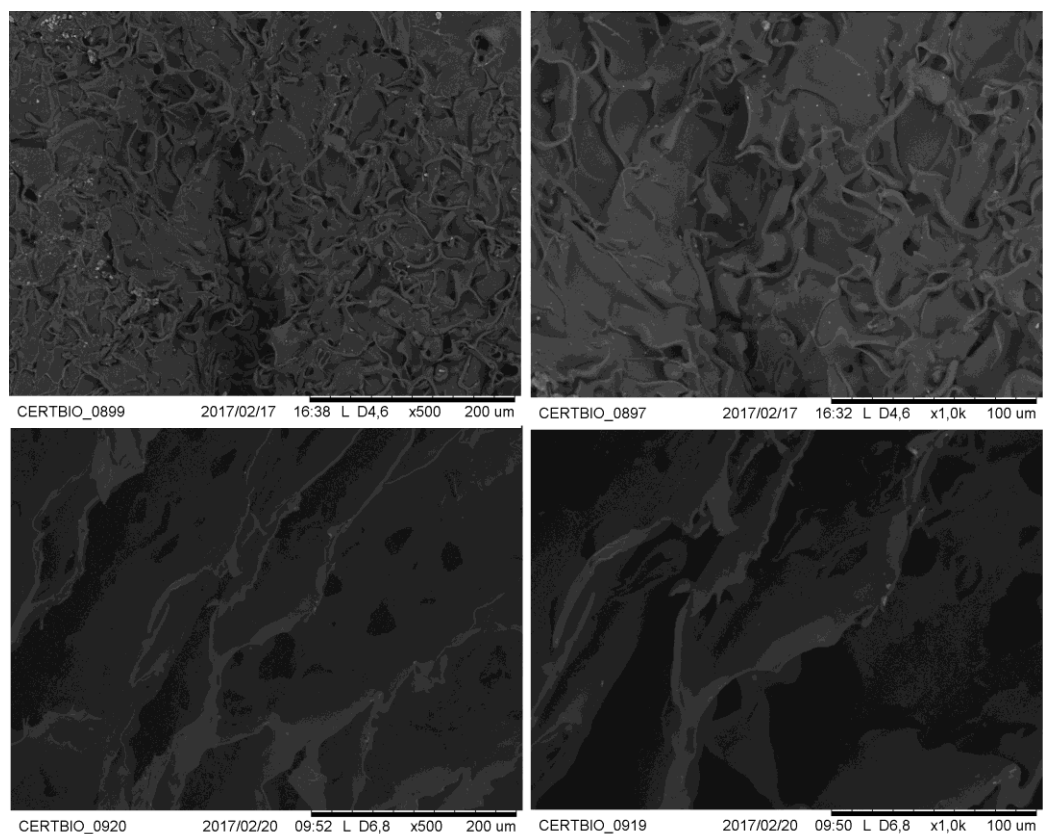


Figura 13 - Imagens de Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV) das superfícies externas (s) e de cortes transversais (sc) das amostras de quitosana com fármaco com 1% de gelatina (Fonte: Própria).

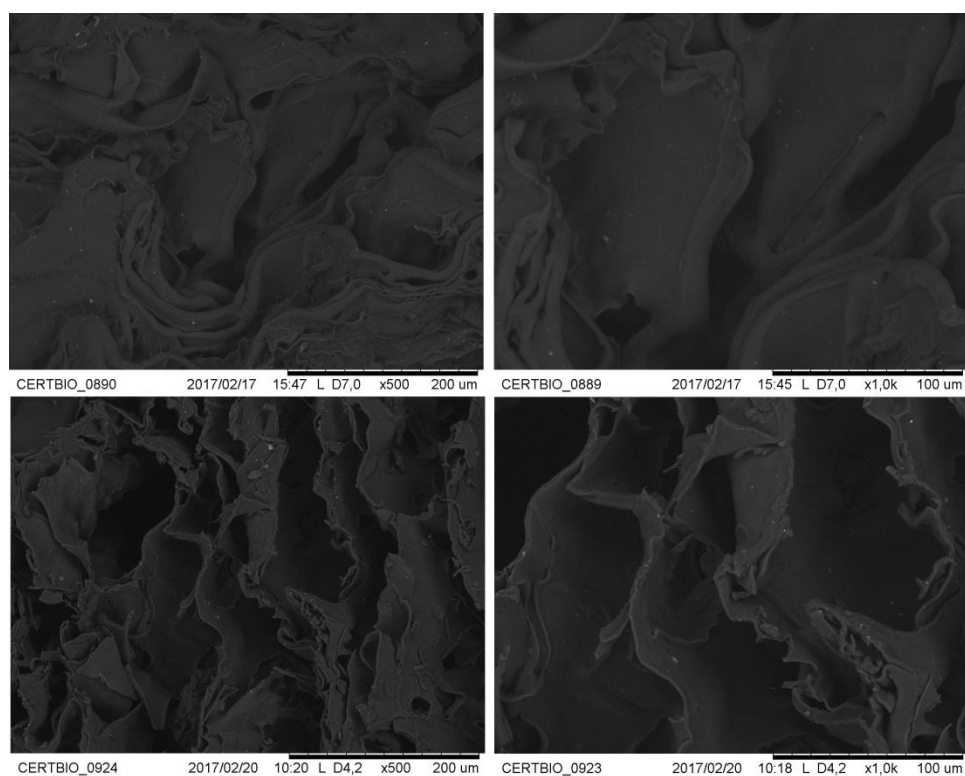


Figura 14 - Imagens de Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV) das superfícies externas (s) e de cortes transversais (sc) das amostras de quitosana com fármaco com 3% de gelatina (Fonte: Própria).

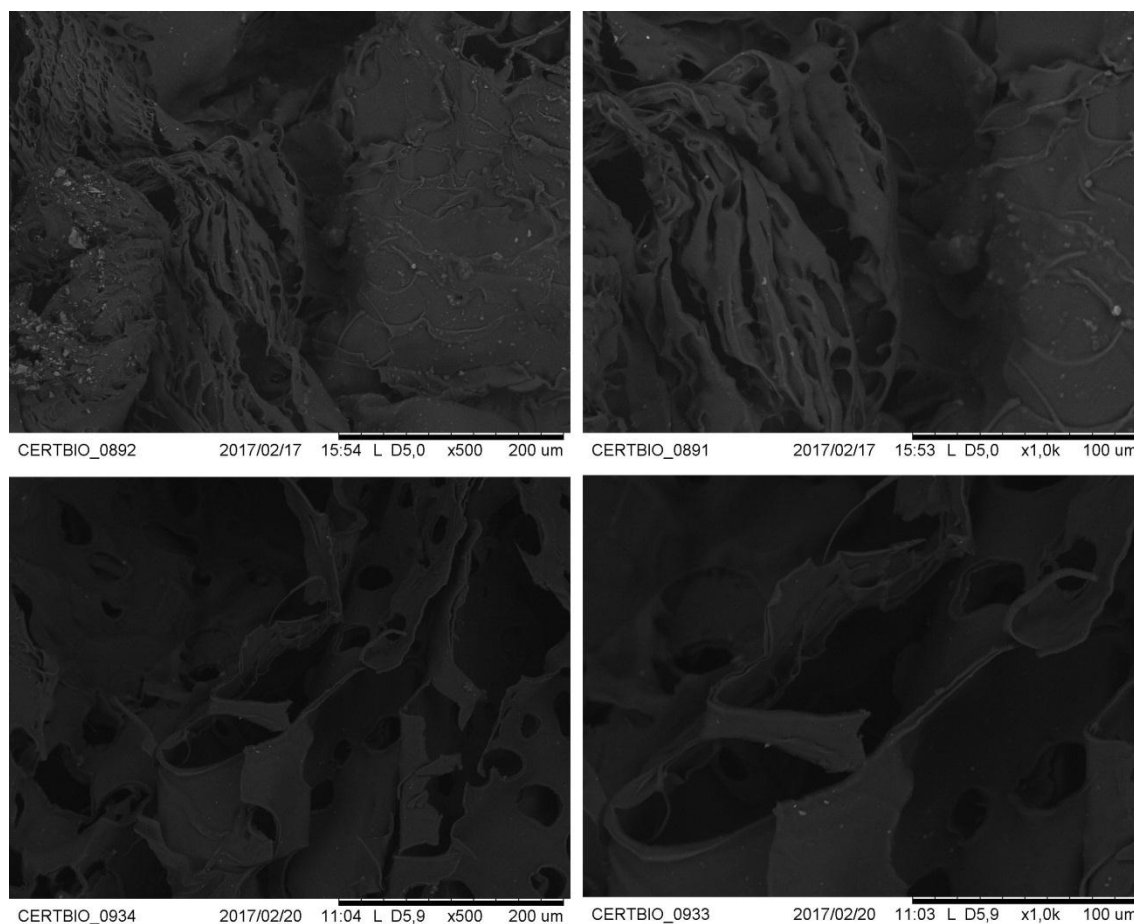


Figura 15 - Imagens de Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV) das superfícies externas (s) e de cortes transversais (sc) das amostras de quitosana com fármaco com 5 % de gelatina (Fonte: Própria).

Segundo Bitencourt (2013) a incorporação de substâncias ativas pode influenciar na estrutura superficial e interna dos materiais devido a diversos fatores como: tamanho, peso molecular, as interações com a matriz polimérica, dentre outros.

Um fator importante a ser observado é que a porosidade nos arca-bouços influencia significativamente na liberação controlada do fármaco, além disso a diminuição dos poros com aumento da concentração de gelatina permite uma penetração de fluidos biológicos menor, diminuindo a difusão do fármaco para o meio. Esse fato pode ser relatado por Lyra (2007) quando o mesmo descreve que nas matrizes hidrofílicas constituídas por uma mistura do fármaco com um polímero hidrófilo, os poros mais próximos à superfície da matriz quando em contato com a água ou com os fluidos biológicos, absorvem pequenas quantidades de água e a liberação do fármaco passa a ser controlado pela sua dissolução e difusão polimérica no meio aquoso interno, até o exterior da matriz.

4.3 Espectroscopia por Energia Dispersiva de raios X (EDS)

No ensaio de EDS foi observado a presença de elementos químicos presentes nas amostras ilustrados na Tabela 2.

Tabela 2 - Concentrações dos elementos em diferentes concentrações de gelatina fármaco.

Elemento	Q	QG1	QG3	QG5	QF	QG1F	QG3F	QG5F
Carbono	46,43	62,92	59,09	63,45	62,86	54,09	68,06	60,47
Oxigênio	42,84	37,08	40,91	36,55	28,30	32,70	23,66	28,34
Nitrogênio	10,72	0,00	0,00	0,00	7,79	12,09	7,92	10,91
Cloro	0,00	0,00	0,00	0,00	0,91	0,78	0,28	0,21
Enxofre	0,00	0,00	0,00	0,00	0,14	0,34	0,09	0,07

Fonte: Própria

Sendo que Q: Quitosana; QG1: Quitosana/Gelatina 1%; QG3: Quitosana/Gelatina 3%; QG5: Quitosana/Gelatina 5%; QF: Quitosana/Fármaco; QG1F: Quitosana/Gelatina 1%/Fármaco; QG3F: Quitosana/Gelatina 3%/Fármaco; QG5F: Quitosana/Gelatina 5%/Fármaco. (Fonte: Própria)

Nas amostras adicionadas de fármaco pode-se verificar a presença de elementos como o Cloro, Enxofre e Nitrogênio, confirmando a presença do Fenticonazol nos sistemas.

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

A técnica de FTIR foi utilizada com o objetivo de demonstrar os espectros com as bandas características dos grupos funcionais obtidos a partir das amostras de quitosana sem e com diferentes concentrações de gelatina, como também com o fármaco.

De acordo com a Figura 16, pode-se observar o espectro de FTIR da amostra de gelatina.

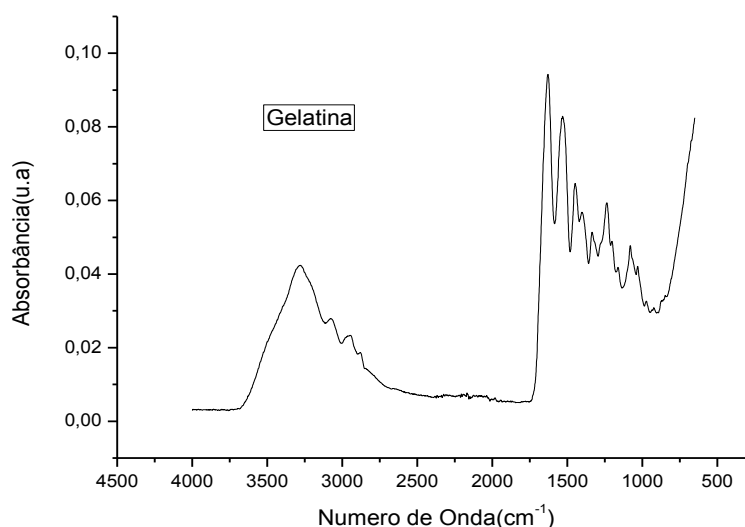


Figura 16 - Espectro de FTIR da amostra de gelatina (Fonte: Própria).

Segundo Silva (2013) o espectro referente a gelatina apresenta bandas características em 1656 cm^{-1} , devido ao estiramento da carbonila; em 1556 cm^{-1} , devido às vibrações no plano da ligação N-H e ao estiramento C-N; em 1229 cm^{-1} , devido ao estiramento C-N e a deformação N-H; em 1454 cm^{-1} , e próximo a 3268 cm^{-1} , devido ao estiramento O-H.

No espectro da quitosana (Q), (Figura 17) a banda em torno de 3332 cm^{-1} é referente ao estiramento axial de OH, sobreposta à banda de estiramento N-H. A banda em 2885 cm^{-1} é atribuída ao estiramento assimétrico do grupo C-H. A banda em 1646 cm^{-1} está associada à deformação axial C=O da amida primária. A banda em 1581 cm^{-1} é referente a deformação vibracional do grupo amina protonado (NH_3^+). A banda em 1379 cm^{-1} pode ser atribuída à deformação axial - CN de grupos amino. A banda intensa em 1016 cm^{-1} está associada ao estiramento C-O-C dos anéis piranosídicos.

O espectro característico da quitosana está de acordo com Silva (2013) e Barbosa (2011), pois apresentam todas as absorções relativas à quitosana e, ainda de acordo com o espectro da amostra de quitosana, pode-se afirmar que a mesma não é 100% desacetilada, pois encontra-se na região de 1658 cm^{-1} , uma banda característica da amida I ($\text{O}=\text{C}-\text{NHR}$).

Para a quitosana com diferentes concentrações de gelatina (QG1%, QG3% e QG5%) (Figura 17) não foram observados picos com alterações significativas quando comparados ao material com quitosana pura.

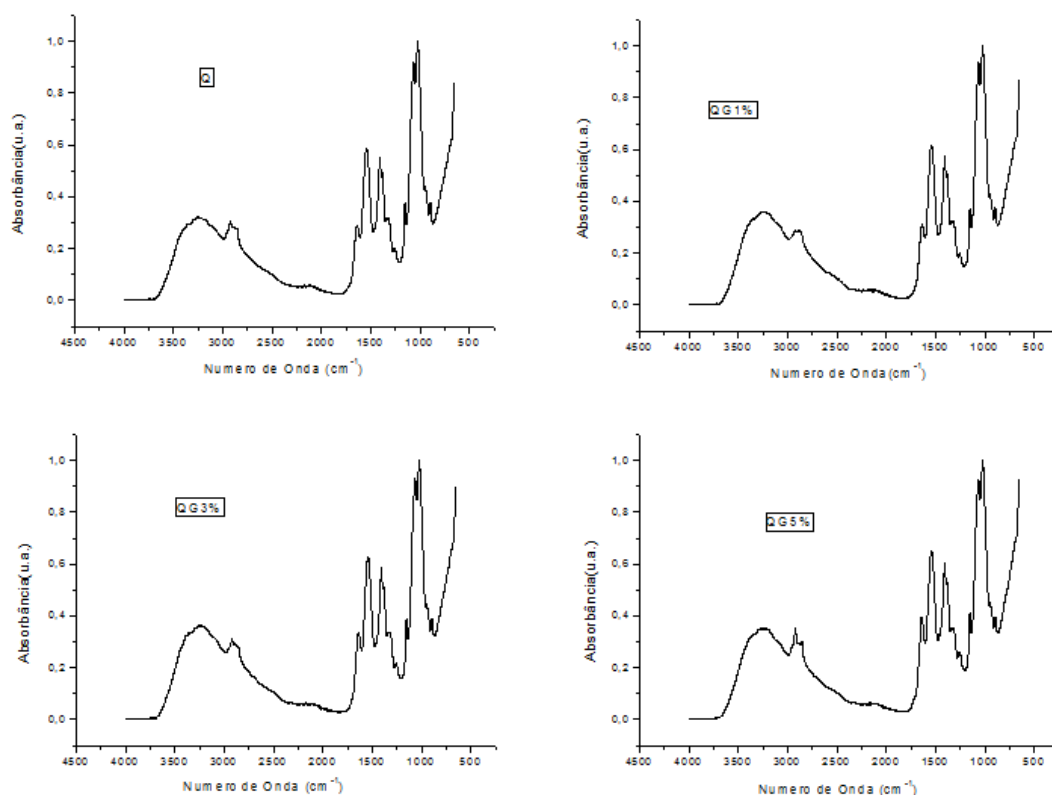


Figura 17- Espectroscopia na Região do Infravermelho com Transformada de Fourier das amostras de quitosana sem e com gelatina (Fonte: Própria).

Na Figura 18 e 19, a absorção dos espectros na região de $3200 - 2500 \text{ cm}^{-1}$ apresentam vibrações de deformação axial característicos das ligações de hidrogênio intramolecular com $\text{C}=\text{O}$, além disso pode-se observar um caráter de esqueleto carbono de estiramento CH aromático do fármaco. Na região dos espectros de $1580 - 1540 \text{ cm}^{-1}$ nota-se vibrações de banda fraca de deformação angular em N-H , muitas vezes sobreposta pela banda de 1.560 de aromáticos. Na banda $1390 - 1370 \text{ cm}^{-1}$ refere-se a deformação angular em CH_3 , já nos espectros $1340 - 1250 \text{ cm}^{-1}$ observa perfil característico de C-N de aromáticos. Na região 1094 cm^{-1} é possível notar o vibração de estiramento $\text{C}=\text{S}$ o qual é característico da molécula de fenticonazol, além disso na banda de $800 - 600 \text{ cm}^{-1}$ denota a ligação $\text{C} - \text{Cl}$ reforçando os principais espectros do fármaco.

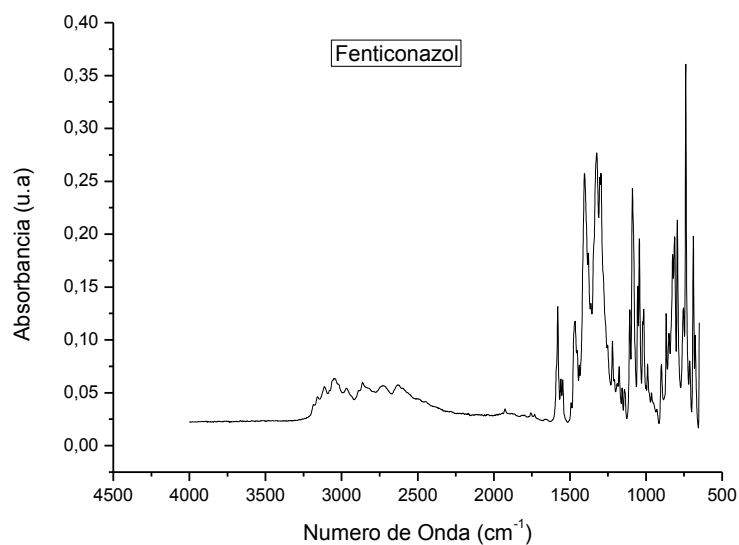


Figura 18 - Espectroscopia na Região do Infravermelho com Transformada de Fourier da amostra de fenticonazol (Fonte: Própria).

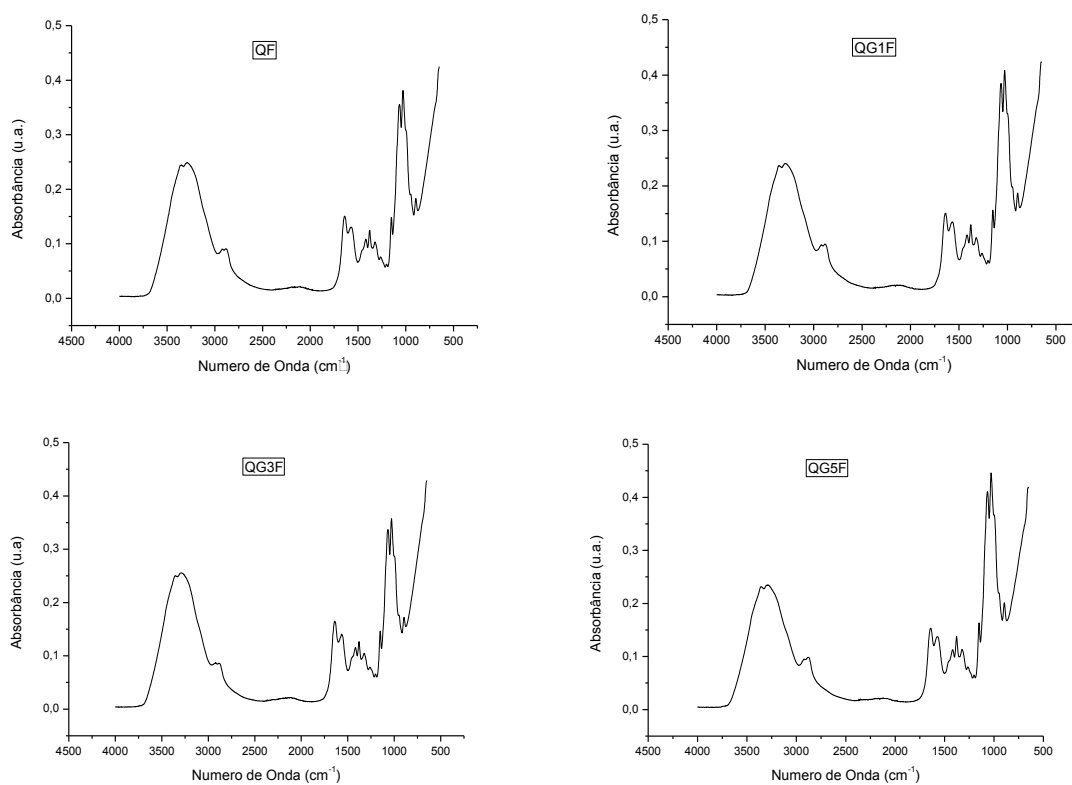


Figura 19 - Espectroscopia na Região do Infravermelho com Transformada de Fourier das amostras de gelatina e quitosana com fármaco (Fonte: Própria).

Relacionando os espectros (Figuras 16 à 19) foi possível notar uma interação entre o fármaco e quitosana no intervalo de picos de 1642 e 1384 cm^{-1} , no qual nota-se a diminuição da intensidade dos grupamento característicos de amida e amina. É provável que o fármaco tenha favorecido na reticulação da estrutura do material obtido.

Wang, Turhan e Gunasekaran (2004) e Rokhade, Sangamesh e Aminabhavi (2007) quando estudaram a reticulação química das matrizes poliméricas (quitosana e gelatina) com glutaraldeído, observaram que o nitrogênio nucleofílico do grupo amina ($-\text{NH}_2$) reage com o carbono do aldeído, o qual desloca o oxigênio do aldeído e resulta na perda da molécula de água, formando assim a ligação $\text{C}=\text{N}$ ($\sim 1648 \text{ cm}^{-1}$) base de Schiff, promovendo a formação das ligações cruzadas entre os grupamento amina e o grupamento aldeído.

4.5 Grau de Intumescimento (GI)

Segundo Mei e colaboradores (1995) o grau de intumescimento depende da interação polímero-solvente e do grau de reticulação do polímero. Sendo assim, a proporção de ligações cruzadas é um dos fatores mais importante que afeta o intumescimento dos polímeros (Peppas, 2000).

A partir das análises expostas na Figura 20, observou-se que a amostra de quitosana com fármaco apresentaram um elevado grau de intumescimento, o que corrobora com os resultados de MEV e FTIR, reforçando a ideia de uma forte interação entre a quitosana e o fármaco, o qual influencia de certa forma na reticulação das amostras. Outro fator importante é que com adição da gelatina nas amostra de quitosana com fármaco, foi possível observar um declino no grau de intumescimento, entretanto esse grau manteve-se constate, ressaltando mais uma vez a forte interação entre o fármaco e quitosana.

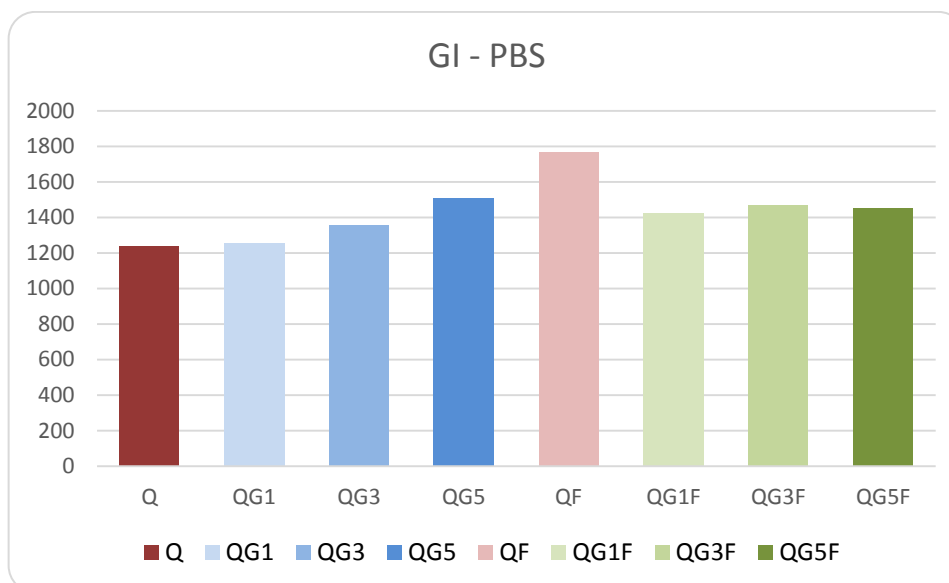


Figura 20 - Grau de Intumescimento (GI) com PBS das amostras em diferentes concentrações de gelatina, com e sem fármaco (Fonte: Própria).
 Grau de Intumescimento (GI) com PBS. Q: Quitosana; QG1: Quitosana/Gelatina 1%; QG3: Quitosana/Gelatina 3%; QG5: Quitosana/Gelatina 5%; QF: Quitosana/Fármaco; QG1F: Quitosana/Gelatina 1%/Fármaco; QG3F: Quitosana/Gelatina 3%/Fármaco; QG5F: Quitosana/Gelatina 5%/Fármaco

De acordo com Silva e colaboradores (2004) o maior intumescimento das membranas reticuladas atribuída a maior absorção de água, ocorre devido à menor cristalinidade do polímero reticulado, provocada por um espaçamento maior entre as cadeias da quitosana, devido à presença do reticulador.

4.6 Biodegradação

Nos resultados obtidos nas Figuras 21 e 22, nota-se uma baixa biodegradação na amostra de quitosana com fármaco, denotando a hipótese de que o fármaco atuou na reticulação das amostras, porém percebe-se que com o aumento da concentração de gelatina nas amostras, essa biodegradação aumenta gradativamente tanto nos ensaios com PBS quanto com Ácido Lático, outro aspecto é que nos ensaios com Ácido Lático essa biodegradação foi significativamente maior que com o PBS.

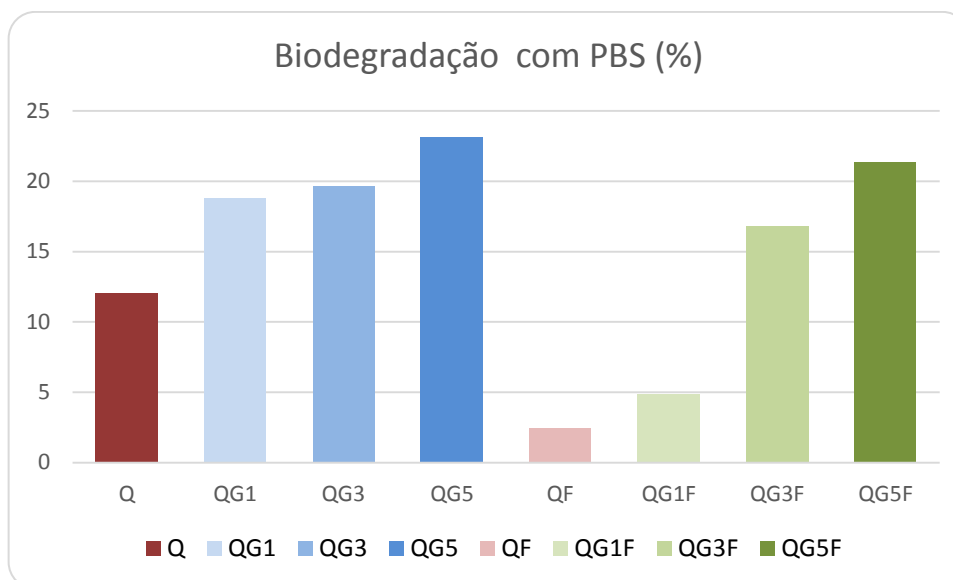


Figura 21 - Ensaio de Biodegradação com PBS das amostras em diferentes concentrações de gelatina, com e sem fármaco (Fonte: Própria).

Ensaio de Biodegradação com PBS. Q: Quitosana; QG1: Quitosana/Gelatina 1%; QG3: Quitosana/Gelatina 3%; QG5: Quitosana/Gelatina 5%; QF: Quitosana/Fármaco; QG1F: Quitosana/Gelatina 1%/Fármaco; QG3F: Quitosana/Gelatina 3%/Fármaco; QG5F: Quitosana/Gelatina 5%/Fármaco

Apesar da biodegradação ser relativamente maior no ensaio com Ácido Lático (Gráfico 22) quando comparado ao ensaio com PSB, nota-se que nas amostras com fármaco apresentaram maior resistência a biodegradação quando comparadas as amostras sem a presença do fármaco, justificando o que foi dito anteriormente.

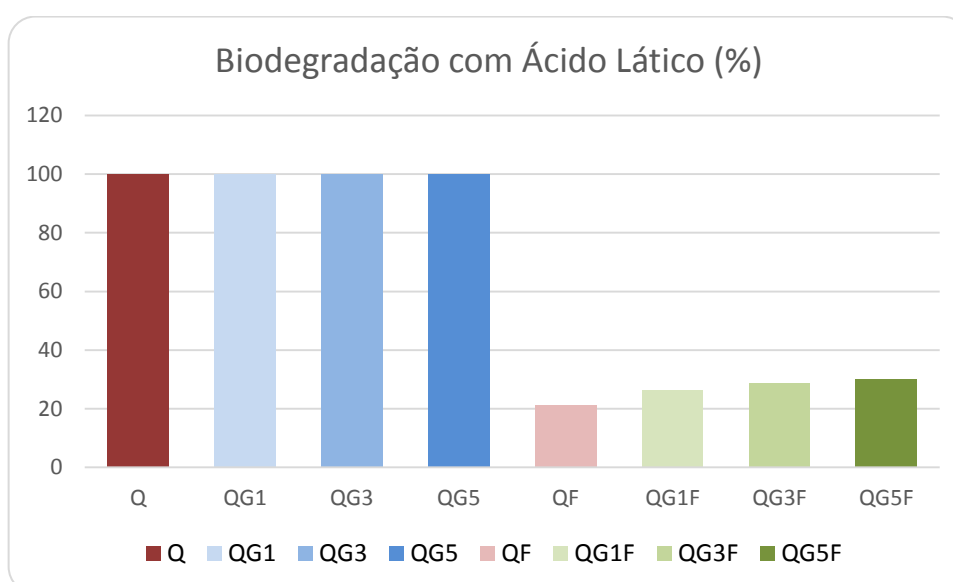


Figura 22 - Ensaio de Biodegradação com Ácido Lático das amostras em diferentes concentrações de gelatina, com e sem fármaco (Fonte: Própria).

Ensaio de Biodegradação com Ácido Lático. Q: Quitosana; QG1: Quitosana/Gelatina 1%; QG3: Quitosana/Gelatina 3%; QG5: Quitosana/Gelatina 5%; QF: Quitosana/Fármaco; QG1F: Quitosana/Gelatina 1%/Fármaco; QG3F: Quitosana/Gelatina 3%/Fármaco; QG5F: Quitosana/Gelatina 5%/Fármaco.

Como foi visto no resultado o alto grau de hidrofiliicidade da gelatina, mostra que esta se dissolve em meio aquoso como foi observado nos estudos de Alves (2005) e Wolf (2007) e que segundo Assis e Silva (2003), os filmes de quitosana apresentam, na condição seca, baixa permeação de gases e apresentam alta afinidade com a água que ocorre devido à predominância dos grupos amino da quitosana, caracterizados por ligações covalentes (N-H), onde a eletronegatividade dessas ligações gera sítios de alta polaridade, tornando favorável o rearranjo de moléculas de água ao seu redor, característica essa associada aos grupos acetamida, apresentando este como sendo um material de alto grau de hidrofiliicidade. Essa afinidade por água traz consequências indesejáveis como a redução da estabilidade natural do polímero na presença de umidade, que provoca a desagregação das fibras. Sendo assim, a partir dos resultados nota-se que a intereação fármaco/quitosana confere maior estabilidade nos arcabouços em relação a biodegradação dos mesmos.

5 CONCLUSÕES

Pela técnica de processamento utilizado foi possível obter um biomaterial em forma de óvulos para uma futura aplicação no tratamento da vaginite fúngica.

O ensaio de Biodegração com PBS e com Ácido Lático comprovam uma ação reticulante entre o fenticonazol e a matriz polimérica, sugerindo a possibilidade de utilização dos scaffolds (fenticonazol/quitosana/gelatina) nos sistemas de liberação de fármacos.

Desta forma pode-se concluir que foi possível obter um sistema para liberação de fenticonazol utilizando polímeros biodegradáveis.

6 SUGESTÕES PARA TRABALHOS FUTUROS

Produzir o arcabouço com outros percentuais de gelatina com o objetivo de acelerar o processo de degradação ou solubilização do sistema para que o mesmo atenda o tempo de tratamento da doença que é de 7 dias;

Estudo da validação de metodologia analítica e liberação de fenticonazol;

Avaliação pré-clínica para confirmar a efetividade do sistema no tratamento da vaginite fúngica.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ALMEIDA, T. L. **Desenvolvimento de membrana composta de PVAL e quitosana compatível com o sistema dermo - epidérmico**. 106f. 2009. Dissertação apresentada como parte dos requisitos para obtenção do grau de mestre em ciências na área de tecnologia nuclear - materiais - Instituto De Pesquisas Energéticas E Nucleares, Autarquia associada à Universidade de São Paulo São Paulo, 2009.

ALMEIDA, P. F. **Análise da Qualidade de Gelatina obtida de tarsos de frango e aspectos envolvidos no processo produtivo**. 135f. 2012. Dissertação (Mestre em Engenharia de Produção) - Programa de Pós-Graduação em Engenharia de Produção, Universidade Nove de Julho, São Paulo, 2012.

ÁLVARES, C. A.; SVIDZINSKI, T. I. E.; CONSOLARO, M. E. L. Candidíase vulvovaginal: fatores predisponentes do hospedeiro e virulência das leveduras. **J Bras Patol Med Lab**. v. 43, pp. 319-327, 2007.

ALVES, M. S. (2005). **Obtenção e caracterização de biofilmes de gelatina**. *Congresso de Iniciação Científica*, 14. Piracicaba, Anais. Piracicaba: Universidade Metodista de Piracicaba. Disponível em: <http://www.unimep.br/phpg/mostraacademica/anais/4mostra/pdfs/87.pdf>, acesso em 14 de jun. de 2017.

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

BARBOSA, R. C., **Compósitos Quitosana/Carbonato de Cálcio para Utilização em Cânulas de Fístula Ruminal**. Dissertação (Doutorado em Engenharia de Materiais) 119f. Universidade Federal de Campina Grande - UFCG, 2011.

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

BOATTO, H. F.; MORAES, M. S.; MACHADO, A. P.; GIRÃO, M. J. B. C.; FISCHMAN, O. Correlação entre os resultados laboratoriais e os sinais e sintomas clínicos das pacientes com candidíase vulvovaginal e relevância dos parceiros sexuais na manutenção da infecção em São Paulo, Brasil. **Rev Bras Ginecol Obstet**. v. 29, pp. 80-84, 2007.

BIERBRAUER, K. L.; ALASINO, R. V.; MUÑOZ, A.; BELTRAMO, D. M.; STRUMIA, M. C. Characterization and bacterial adhesion of chitosan-perfluorinated acid films. **Colloids and Surfaces B: Biointerfaces**. v. 114. pp. 201-208, 2014.

BITENCOURT, C. M. **Desenvolvimento e aplicação de filmes á base de gelatina aditivados com extrato etanólico de cúrcuma (Curcuma longa L.)** Dissertação. Pirassununga: Universidade de São Paulo; 2013.

CAMPANA FILHO, S. P.; SIGNINI, R.; CARDOSO, M. B., Propriedades e Aplicações de Quitosana. **Revista Processos Químicos**. pp.10-20, 2007.

CHAVES, G. B.; SANTOS, M. S.; CAJUEIRO, S. D. Avaliação do nível de conhecimento de discentes dos cursos superiores de saúde a respeito da candidíase vaginal. **Revista Saúde e Ciência** On line, 2015; 4(1): 90-104

COIMBRA, P. M. A. **Preparação e Caracterização de Sistemas de Liberação Controlada de Fármacos com base em Polímeros de Origem Natural**. Dissertação. Faculdade de Ciências e Tecnologia da Universidade de Coimbra. Coimbra, 2010.

COSTA, C. R. **Fatores de virulência de isolados de candida de pacientes imunocomprometidos. caracterização molecular de candida albicans suscetíveis e resistentes ao fluconazol**. Tese, 94f. Programa de Pós Graduação em Medicina Tropical da Universidade Federal de Goiás, Goiania, Goiás, 2009.

COSTA SILVA, H. S. R.; SANTOS, K. S. C. R.; FERREIRA, E. I. Quitosana: Derivados Hidrossolúveis, Aplicações Farmacêuticas e Avanços. **Quim. Nova**, v. 29, pp. 776-785, 2006.

CHUNG, T. W.; YANG, J.; AKAIKE, T.; CHO, K. Y.; NAH, J. W.; KIM, S.; CHO, C.S. Preparation of alginate/galactosylated chitosan scaffold for hepatocyte attachment. **Biomaterials**, v. 23, pp. 2827-2834, 2002.

DASH, M.; CHIELLINI, F.; OTTENBRITE, R.M.; CHIELLINI, E. Progress in Polymer Science. Chitosan: A versatile semi-synthetic polymer in biomedical applications. **Special Issue on Biomaterials**. v. 36, n. 8, pp. 981-1014, 2011.

FERRACIN, I.; OLIVEIRA, R. M. W. Corrimento vaginal: causa, diagnóstico e tratamento farmacológico. **Infarma**. v.17, pp. 82-86, 2005.

FEUERSCHUETTE, O. H. M.; SILVEIRA, S. K.; FEUERSCHUETTE, I.; CORRÊA, T.; GRANDO, L.; TREPANI, A. Candidíase vaginal recorrente: manejo clínico. **FEMINA**. v. 38, pp. 31-36, 2010.

FOOK, A. C. B. M. **Produção e caracterização de arcabouços compósitos ha/biopolímero para engenharia de tecidos**. Tese, 139f. Programa de Pós Graduação em Ciências e Engenharia de Materiais da Universidade Federal de Campina Grande, Campina Grande, 2012.

GAZETA JÚNIOR, A.; GRIGOLETO, A. R. L.; FREGONEZ, P. A. G. Candidíase Vaginal: uma questão de educação em saúde. **Brazilian Journal of Health**. v. 2, n. 2, 2011.

GHANBAR, H.; LUO, C.J.; BAKHSHI, P.; DAY, R.; EDIRISINGHE, M. Preparation of porous microsphere-scaffolds by electrohydrodynamic forming and thermally induced phase separation. **Materials Science and Engineering: C**. v. 33, n. 5, pp. 2488-2498, 2013.

GOODMAN, L. S.; GILMAN, A. G.; HARDMAN, J. G.; LIMBIRD, L. E. In: **Goodman e Gilman: as bases farmacológicas da terapêutica**. 10 ed. Rio de Janeiro: McGraw-Hill, 2003.

GORLERO, F.; MACCHIAVELLO, S.; PELLEGATTA, L.; AIROLD, M. L.; GAFFURI, B.; PULICI, L.; DE CECCO, L. Evaluation of the efficacy and tolerability of two different dosages of fenticonazole vaginal ovules (600 mg and 1000 mg) in patients with vaginal trichomoniasis: A controlled, double-blind, randomized clinical trial versus placebo. **Current Therapeutic Research**. v. 55, pp. 510-518, 1994.

HOLANDA, A. L. de. **Membranas de Quitosana para uso em Sistema de Liberação Controlada de Insulina: Síntese e Caracterização**. Tese. Programa de Pós-Graduação em Engenharia de Processos. Universidade Federal de Campina Grande-UFCG, Campina Grande, 2011.

HENRIQUE, J. S.; FALCARE, R. S.; LOPES, P. S. Sistemas de Liberação Controlada. **Pharmacia Brasileira**, nov/dez, 2006.

<https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/fenticonazole>. Acesso em 01 de ago. de 2017.

ICHIMURA, A. S. **Desenvolvimento e validação de método bioanalítico por difusão em ágar para determinação da potência do fenticonazol creme vaginal**. 31 f. Universidade Estadual Paulista, Araraquara-SP, 2013.

JAIN. K. K. **Drug Delivery Systems**. Ed. Humana Press. Totowa- USA, 2008.

JOSUÉ, A.; LARANJEIRA, M. C. M.; FÁVERE, V. T.; QUITTECH, I. Y. K.; PEDROSA, R. C. Liberação Controlada da Eosina Impregnada em Microesferas de Copolímero de Quitosana e Poli(ácido acrílico). **Polímeros: Ciência e Tecnologia**. v. 10, pp. 116-121, 2000.

JUNQUEIRA, L. C.; CARNEIRO, J. **Histologia básica: Texto e atlas**. 12 ed. Rio de Janeiro: Editora Guanabara Koogan, 2013.

KALACHANDRA, S.; TAKAMATA, T.; LIN, D. M. Stability and release of antiviral drugs from ethylene vinyl acetate (EVA) copolymer. **J Mater Sci: Mater Med**, v. 17, pp. 1227-1236, 2006.

KOCKISCH, S. Mucoadhesive, triclosan-loaded polymer microspheres for application to the oral cavity: preparation and controlled release characteristics. **European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics**, v. 59, pp. 207-216, 2005.

LARANJEIRA, C. M.; FÁVERE, V. T., Quitosana: biopolímero funcional com potencial industrial biomédico. **Quim. Nova**. v. 32, n. 3, pp. 672-678, 2009.

LYRA, M. A. M.; SOARES-SOBRINHO, J. L.; BRASILEIRO, M. T.; LA ROCA, M. F. de; BARRAZA, J. A.; VIANA, O. de S.; ROLIM-NETO, P. J. Sistemas Matriciais Hidrofílicos e Mucoadesivos para Liberação Controlada de Fármacos. **Latin American Journal of Pharmacy**. v. 26, n. 5, pp. 784-93, 2007.

MAGALHÃES, D.; MENEZES, H. H. M.; OLIVEIRA, S. R. Reparação óssea e reconstrução periodontal. **J Bras End Period**, v. 1, n. 1, pp. 72-77, 2000.

MEI, L. H. I.; LEITE, R. C.; FELISBERTI, M. I. **Hidrogéis de poli(álcool vinílico):** caracterização do grau de intumescimento e de reticulação para aplicação em liberação controlada de drogas. . IN: III Congresso Brasileiro de Polimeros, pp. 269-272, 1995.

MIRTCHI, A. A.; LEMAITRE, J.; TERAQ, N. Calcium phosphate cements: study of the B- tricalcium phosphate-monocalcium phosphate system. **Biomaterials**, n. 10, pp. 475-480, 1989.

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

NAUD, P.; MATOS, J.; HAMMES, L.; MAGNO, V.; BROWERS, C.; SPILKI, M.; D'ÁVILA, A.; MARTINEZ, G. Estudo da eficácia e tolerabilidade do fenticonazol no tratamento da vaginose bacteriana - Estudo duplo-cego, randomizado, prospectivo, controlado e comparado com grupo placebo. **Revista Brasileira de Medicina**, v. 60, n.1/2, pp. 67-70, 2003.

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

PEPPAS, N. A.; BURES, P.; LEOBANDUNG, W.; ICHIKAWA, H. Hydrogels in pharmaceutical formulations. **European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics**, v. 50, pp. 27-46, 2000.

PRESTES, R. C. Colágeno e seus derivados: Características e Aplicações em Produtos Cárneos. UNOPAR **Cient. Ciênc. Biol. Saúde**, v. 15, pp. 65-74, 2012.

RINAUDO, M. Chitin and chitosan: Properties and applications. **Progress in Polymer Science**, v. 31, pp. 603-632, 2006.

ROKHADE, A. P.; SANGAMESH, A. P.; AMINABHAVI, T. M. Synthesis and characterization of semi-interpenetrating polymer network microspheres of acrylamide grafted dextran and chitosan for controlled release of acyclovir. **Carbohydrate Polymer**, v. 67, pp. 605-613, 2007.

ROSA, M. I.; RUMEL, D. Fatores associados à candidíase vulvovaginal: Estudo Exploratório. **Rev Bras. Ginecol. Obstet.** v. 26, pp. 65-70, 2004.

SILVA, R. M.; SILVA, G. A.; COUTINHO, O. P. Preparation and characterisation in simulated body conditions of glutaraldehyde crosslinked chitosan membranes. **Journal of Materials Science: Materials in Medicine**, v. 15, pp. 1105-1112, 2004.

SILVA, R. S. M. **Desenvolvimento e avaliação de membranas de quitosana/gelatina/heparina**. Tese, 139f. Programa de Pós Graduação em Ciências e Engenharia de Materiais. Universidade Federal de Campina Grande- UFCG. Campina Grande, 2013.

SILVA, M. C.; FIDELES, T. B.; FOOK, M. V. L. Esferas de quitosana e quitosana/curcumina pelo método de gelificação ionotrópica: influência da

incorporação do fármaco. **Revista Eletrônica de Materiais e Processos**, v. 10, n. 1, pp. 21-28, 2015.

SINHA, V. R.; TREHAN, A. Biodegradable microspheres for protein delivery. **Journal of Controlled Release**. v. 90, n. 3, pp. 261-280, 2003.

SIMÕES, J. A. Curso de Biomecânica do Programa de Pós-Graduação em Engenharia Elétrica e Informática Industrial (CPGEI). Notas de aula, 2000.

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

STULZER, H. K.; TAGLIARI, M. P.; SILVA, M. A. S.; LARANJEIRA, M. C. M. Desenvolvimento, Avaliação e Caracterização Físico Química de Micropartículas Constituídas de Aciclovir/Quitosana Desenvolvidas pela Técnica de Spray-drying. **Lat. Am. J. Pharm.** v. 26, pp. 866-871, 2007.

VALL, I. C. C.; ALMEIDA FILHO, G. L. Abordagem Atual da Candidíase Vulvovaginal. **J bras. Doenças Sex. Transm.** v. 13, pp. 3-5, 2001.

WANG, T.; TURHAN, M.; GUNASEKARAN, S. Selected properties of pH-sensitive, biodegradable quitosana-poly(vinyl alcohol) hydrogel. **Polymer International**, v. 53, pp. 911-918, 2004.

WOLF, K. L. (2007). **Propriedades físico-químicas e mecânicas de biofilmes elaborados a partir de fibra de pós de colágeno**. Dissertação 101f. (Mestrado em Engenharia e Ciência de Alimentos). Universidade Estadual Paulista, Araraquara-SP, 2007.

WU, X.; LIU, Y.; LI, X.; WEN, P.; ZHANG, Y.; LONG, Y.; WANG, X.; GUO, Y.; XING, F.; GAO, J. Preparation of aligned porous gelatin scaffolds by unidirectional freeze-drying method. **Acta Biomaterialia**, v. 6, pp. 1167-1177, 2010.